

Herstellung von hyperpolarisiertem Xenon-129 und Anwendungen in der Flüssigkeits-NMR-Spektroskopie



Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften
(Dr. rer. nat.) der naturwissenschaftlichen Fakultät III - Biologie und
Vorklinische Medizin der Universität Regensburg

vorgelegt von

Daniela Baumer
aus
Regensburg

Februar/2006

Promotionsgesuch eingereicht am: 1.02.2006

Die Arbeit wurde angeleitet von: Prof. Dr. Eike Brunner

Prüfungsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. Wirth

Gutachter: Prof. Dr. Brunner

PD Dr. Bäumler

Drittprüfer: Prof. Dr. Dr. Kalbitzer

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung	1
II	Allgemeine Grundlagen	5
1	Kernmagnetische Resonanz (NMR)	6
1.1	Die Grundlagen der NMR-Spektroskopie	7
1.2	Die chemische Verschiebung	9
1.3	Verwendete NMR-Spektrometer	10
2	Hyperpolarisation von Xenon-129	11
2.1	Optisches Pumpen von Rubidium	12
2.1.1	Energiezustände des Rubidiums	12
2.1.2	Wechselwirkung von Rubidium und Laserlicht	14
2.1.3	Relaxationsraten und Ratengleichung des optischen Pumpens	16
2.2	Kernspinpolarisation von Xenon-129	17
2.2.1	Wechselwirkung zwischen Rubidium und Xenon	18
2.2.2	Relaxationsraten und Ratengleichungen für hyperpolarisiertes Xenon-129	19
3	Spin Polarization-Induced Nuclear Overhauser Effect	21
4	Suszeptibilitäts-Effekte in der Xenon-129 NMR-Spektroskopie	25
5	Biophysikalische Eigenschaften von Xenon	28
5.1	Xenon	28
5.2	Löslichkeit von Xenon	29
5.3	Chemische Verschiebung von Xenon-129	29
5.4	Beispiel für die Verwendung von superkritischem Xenon in der Flüssigkeits-NMR	32

III Experimentelles 34

6 Experimenteller Aufbau 35

6.1	Die Apparatur zur Polarisierung des Xenongases	35
6.1.1	Das Lasersystem	36
6.1.2	Das optische Spektrometer	37
6.1.3	Das Gasgemisch und der Pumpstand	39
6.1.4	Die Pumpzelle	40
6.1.5	Die Ausfriereinheit für das hyperpolarisierte Xenon	43
6.2	Die Hochdruckmessapparaturen	45

7 Verwendete Materialien 47

7.1	Rubidium	47
7.2	Gase	47
7.3	Silikonbeschichtung	48
7.4	Lösungsmittel	48
7.5	Bizellen	48
7.6	Aminosäure L-Tyrosin	49
7.7	Protein HPr(I14A)	49

IV Ergebnisse und Diskussion 50

8 Optisches Spinaustausch-Pumpen im *single-batch*-Betrieb 51

8.1	Protokoll einer <i>single-batch</i> -Messung	51
8.2	Bestimmung der Kernspinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129	52
8.3	Optimierung des <i>single-batch</i> -Verfahrens	54
8.3.1	Optimierung der Vorheizdauer	55
8.3.2	Optimierung der Pumpdauer	56
8.3.3	Optimierung der Pumpzellentemperatur	57
8.3.4	Optimierung des Xenondrucks	60
8.3.5	Optimierung der Heliumdrucks	62
8.3.6	Optimierung des Stickstoffdrucks	63
8.3.7	Ergebnisse der Optimierung der verschiedenen Pumpparameter	65
8.4	Ansammlung und Lagerung von gefrorenem, hyperpolarisiertem Xenon	65

9 Xenon in Lösungsmitteln 67

9.1	Löslichkeitsmessungen im <i>single-batch</i> -Betrieb	67
-----	---	----

<i>INHALTSVERZEICHNIS</i>	iii
9.2 Löslichkeitsmessungen im Durchfluss-Betrieb	69
9.2.1 Die Membranapparatur	69
9.2.2 Erste experimentelle Anwendungen der Membranapparatur . .	72
10 Anwendungen des SPINOE	75
10.1 Pulsprogramm zur Messung eines SPINOE-Differenzspektrums	75
10.2 Anwendung des SPINOE auf verschiedene Moleküle	78
10.2.1 SPINOE-Experimente mit dem Lösungsmittel Toluol	78
10.2.2 SPINOE-Experimente mit der Aminosäure L-Tyrosin	81
10.2.3 SPINOE-Experimente am Protein HPr(I14A)	83
Zusammenfassung	86
Anhang	89
Literaturverzeichnis	92
Danksagung	98
Erklärung	100

Teil I

Einleitung

Einleitung

Die kernmagnetische Resonanz (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) hat sich in den vergangenen Jahrzehnten zu einer wichtigen analytischen Methode in den Naturwissenschaften sowie der Medizin entwickelt. So erlaubt die NMR beispielsweise die Bestimmung der dreidimensionalen Struktur von Proteinen in wässriger Lösung, d.h. unter nahezu physiologischen Bedingungen. Eine andere wichtige Anwendung ist die sogenannte *Magnet-Resonanz-Tomographie* (MRT) in der medizinischen Bildgebung.

Ein grundlegendes Problem der NMR besteht in ihrer relativ geringen Empfindlichkeit. Um möglichst hohe NMR-Signalintensitäten zu erhalten, kann man entweder die Konzentration der zu detektierenden Kerne vergrößern oder die Kernspinpolarisation erhöhen. Letzteres kann durch Temperaturniedrigung, durch Vergrößerung des angelegten Magnetfeldes oder durch spezielle Methoden zur Erzeugung einer über dem Gleichgewichtswert liegenden Polarisierung der Kernspins erreicht werden. Den erstgenannten Methoden sind relativ enge natürliche bzw. technische Grenzen gesetzt. Die letztgenannte Möglichkeit, welche oft auch als *Hyperpolarisation* bezeichnet wird, kann unter Umständen eine Signalerhöhung um mehrere Größenordnungen bewirken. Die Hyperpolarisation von Edelgasen durch optisches Pumpen mit nachfolgendem Spinaustausch erfolgt indirekt: Zunächst wird die Elektronenspinpolarisation eines Alkalimetalls mittels einer externen Lichtquelle (optisches Pumpen) auf nahezu 100 % erhöht. Anschließend erfolgt der Übertrag dieser Polarisierung auf die Kerne eines Edelgases. Für hyperpolarisiertes Xenon-129 wurde bislang ein maximaler Polarisierungsgrad der Kernspins von ca. 70 % [1] erreicht, was einer Signalerhöhung (gegenüber thermisch polarisiertem Xenongas) um einen Faktor von ca. 10^5 entspricht. Dadurch ergibt sich ein breites Anwendungsgebiet für hyperpolarisiertes Xenon-129. Da Xenon ein Edelgas und daher sehr reaktionsträge ist, lässt es sich sehr gut in der biologischen NMR-Spektroskopie einsetzen. Ebenso ist Xenon ein oft verwendetes Sondenatom zur Charakterisierung von Festkörperoberflächen wie z.B. von Zeolithen. Neben der Verwendung als Kontrastmittel in der Medizin bei der Lun-

genbildung oder der Bildgebung am Gehirn ist besonders auch der Übertrag der Kernspinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf andere Kerne von Interesse. Dieser unter dem Namen *Spin Polarization-Induced Nuclear Overhauser Effect* (SPINOE) bekannt gewordene Effekt kann z.B. genutzt werden, um im Rahmen von Strukturbestimmungen an Proteinen hydrophobe Kavitäten, in die das Xenon bindet, zu detektieren.

Das wichtigste Anliegen der vorliegenden Arbeit war der Aufbau einer Apparatur zur Herstellung von hyperpolarisiertem Xenon-129 mit einer möglichst großen Kernspinpolarisation. Insbesondere sollte diese Apparatur die Erzeugung relativ großer Mengen an hyperpolarisiertem Xenongas erlauben.

In Kapitel 1 werden die Grundlagen der NMR-Spektroskopie besonders im Hinblick auf hyperpolarisiertes Xenon kurz dargestellt. Der für diese Arbeit zentrale Begriff der *Kernspinpolarisation* wird eingeführt und die verwendeten Kernresonanzspektrometer werden vorgestellt.

Im darauf folgenden Kapitel werden die theoretischen Grundlagen der Herstellung von hyperpolarisiertem Xenon-129 erklärt. Ein Abschnitt beschäftigt sich ausführlich mit dem *optischen Pumpen*, also der Erzeugung einer erhöhten Elektronenspinpolarisation von Rubidium. Außerdem beschreibt dieses Kapitel den Spinübertrag von Rubidium auf das Xenon-129 und geht auf die relevanten Relaxationsprozesse ein.

Kapitel 3 erläutert die Theorie des Übertrags der Kernspinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon auf andere Kerne (SPINOE). Dieser Effekt wird explizit am Beispiel von hyperpolarisiertem Xenon, gelöst in DMSO, beschrieben.

Im Kapitel 4 wird kurz auf mögliche Suszeptibilitäts-Effekte und daraus resultierende Resonanzfrequenzverschiebungen von Xenon-129 und H-1 eingegangen.

Kapitel 5 beschäftigt sich mit den biophysikalischen Eigenschaften des Xenons.

Im experimentellen Teil der Arbeit wird in Kapitel 6 zunächst die neu aufgebaute Anlage zur Erzeugung von hyperpolarisiertem Xenon-129 und ihr Betrieb detailliert beschrieben. In Kapitel 7 werden die verwendeten Materialien vorgestellt.

Kapitel 8 beschäftigt sich mit dem optischen Spinaustausch-Pumpen im *single-batch-Betrieb*. Ausführlich wird auf die Optimierung sämtlicher relevanter experimenteller Parameter der Pumpzelle eingegangen. Dies betrifft u.a. die Optimierung des Aufbaus der Apparatur, die experimentellen Prozeduren, die Optimierung der Pumpzellentemperatur und der Pumpzeit sowie die Optimierung der verschiedenen Gaskonzentrationen.

Ausgewählte Anwendungen von hyperpolarisiertem Xenon-129 werden in Kapitel 9 vorgestellt. Bei diesen Experimenten wurde versucht, das Xenongas in verschiedenen Lösungsmitteln zu lösen. Diese Arbeiten wurden zum Teil in Kooperation mit dem

Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz ausgeführt. In Zusammenarbeit mit der Gruppe von Herrn Professor Spiess konnte eine neuartige Membranapparatur zum Lösen von Gasen in Flüssigkeiten entwickelt werden, mit deren Hilfe hyperpolarisiertes Xenon z.B. in DMSO, H₂O sowie in einer wässrigen Lösung mit Phospholipid-Bizellen unter kontinuierlichem Fluss gelöst wurde.

In Kapitel 10 werden erste experimentelle Ergebnisse von SPINOE-Experimenten, speziell zum Polarisationsübertrag von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf Toluol, auf die Aminosäure Tyrosin sowie auf die Austauschmutante I14A des Histidine-containing Phosphocarrier Proteins HPr beschrieben.

Teil II

Allgemeine Grundlagen

Kapitel 1

Kernmagnetische Resonanz (NMR)

Der erste experimentelle Nachweis von Kernresonanz-Signalen wurde 1946 von Bloch et al. [2, 3, 4] und Purcell et al. [5] unabhängig voneinander geführt, nachdem Rabi [6] bereits 1939 Messungen zur Bestimmung von Kernmomenten durchgeführt hatte. F. Bloch und E. M. Purcell wurden beide für diese Entdeckung 1952 mit dem Nobelpreis für Physik ausgezeichnet.

Seit dieser Zeit hat sich die NMR zu einer sehr wertvollen Methode für alle Naturwissenschaften entwickelt. So wurden z.B. bislang ca. 5000 Proteinstrukturen durch Kernresonanzspektroskopie bestimmt¹. Obwohl nach wie vor die meisten Proteinstrukturen durch Röntgenstrukturanalyse bestimmt werden, gewinnt die NMR-Spektroskopie auf diesem Gebiet zunehmend an Bedeutung. Bei der Röntgenstrukturanalyse sind künstlich hergestellte Einkristalle notwendig. In der NMR sind keine Einkristalle nötig, da in wässriger Lösung gemessen werden kann, was oftmals wesentlich leichter zu realisieren ist. Außerdem gelingt es bei einer Reihe von Proteinen ohnehin nicht, Einkristalle zu züchten. Somit besitzt die NMR auch den Vorteil, dass unter nahezu physiologischen Bedingungen gearbeitet werden kann. Außerdem können in der NMR dynamische Prozesse untersucht werden, ebenso wie Strukturänderungen der Proteine durch Variation der Umgebungstemperatur oder des Umgebungsdrucks. Die sogenannte *Kernspin-Tomographie (MRI, Magnetic Resonance Imaging)* wird seit geraumer Zeit sehr erfolgreich in der Medizin zur Ergänzung und Erweiterung der Röntgen-Diagnostik eingesetzt.

Im Folgenden wird das Funktionsprinzip der NMR dargestellt: Die Probe wird in ein starkes homogenes Magnetfeld (derzeit bis zu 21 Tesla) gebracht. Dadurch richten sich die magnetischen Momente der Atomkerne im Magnetfeld aus, wodurch eine feldabhängige Gleichgewichtsmagnetisierung entsteht. Die eingestrahnten Radiowellen wer-

¹Proteindatenbank, Stand 1/06

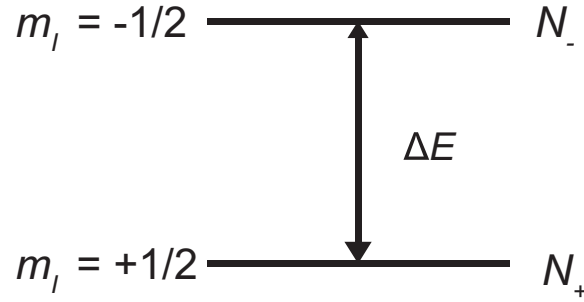


Abbildung 1.1: Kern-Zeeman-Niveaus mit Energiedifferenz ΔE und Besetzungszahlen N_- und N_+ der beiden Niveaus.

den im Resonanzfall, also wenn ihre Energie mit der Energiedifferenz der Kernzustände im Magnetfeld übereinstimmt, von der Probe absorbiert. Diese Energieabsorption bzw. der bei der heute üblichen Fourier-Transformations-NMR-Spektroskopie auftretende freie Induktionszerfall (FID: **F**ree **I**nduction **D**ecay) werden als Signal beobachtet. Im Nachfolgenden werden die Grundlagen der NMR-Spektroskopie dargestellt sowie kurz die verwendeten Spektrometer genannt.

1.1 Die Grundlagen der NMR-Spektroskopie

Atomkerne besitzen einen Drehimpuls \vec{I} mit dazugehöriger Quantenzahl I (dimensionslos), welche ganz-oder halbzahlige Werte zwischen 0 und $15/2$ annehmen kann. Die in dieser Arbeit untersuchten Isotope Xenon-129 und H-1 haben beide den Kernspin $I = 1/2$. Das dazugehörige magnetische Moment ist durch $\vec{\mu}_I = \gamma \vec{I} = \frac{g_I \mu_K}{\hbar} \vec{I}$ gegeben. Das *gyromagnetische Verhältnis* γ ist eine kernspezifische Konstante², g der sogenannte Kern-g-Faktor, μ_K das Kernmagneton sowie \hbar die Plank'sche Konstante dividiert durch 2π . Es gibt für den Kerndrehimpuls und damit für die magnetische Kernspinquantenzahl $m_I = I, I - 1, \dots, -I$ genau $2I + 1$ Möglichkeiten sich in einem Magnetfeld B_0 zu orientieren. Somit führt ein Magnetfeld B_0 für Xenon-129 und H-1 zu einer Aufspaltung des Grundzustands in jeweils zwei sogenannte Kern-Zeeman-Niveaus mit $m_I = \pm \frac{1}{2}$ (siehe Abbildung 1.1). Die Energien E_{\pm} dieser Terme in einem Magnetfeld betragen:

$$E_{\pm} = \pm \frac{1}{2} \hbar \gamma B_0. \quad (1.1)$$

Für eine große Anzahl N von Kernen stellt sich im thermodynamischen Gleichgewicht nahezu Gleichverteilung bei der Besetzung der beiden Zeeman-Niveaus ein, jedoch die

² $\gamma_H/2\pi = 42,6 \text{ MHz/T}$, $\gamma_{Xe}/2\pi = -11,8 \text{ MHz/T}$

B_0 [T]	7,05	11,74	14,09	18,70
P_{Xe}	$7 \cdot 10^{-6}$	$12 \cdot 10^{-6}$	$14 \cdot 10^{-6}$	$18 \cdot 10^{-6}$
P_H	$24 \cdot 10^{-6}$	$43 \cdot 10^{-6}$	$51 \cdot 10^{-6}$	$65 \cdot 10^{-6}$

Tabelle 1.1: Charakteristische Zahlenwerte für die Kernspinpolarisation P von Xenon-129 und H-1 für typische Magnetfelder.

auftretende kleine Besetzungszahldifferenz führt zu einer Nettomagnetisierung M :

$$M = N \mu P = \frac{N \gamma \hbar P}{2}. \quad (1.2)$$

Hierbei ist P die Kernspinpolarisation, definiert durch:

$$P = \left| \frac{N_- - N_+}{N_- + N_+} \right| \cdot 100\%. \quad (1.3)$$

N_- und N_+ sind die Besetzungszahlen der beiden Energiezustände mit $m_I = -\frac{1}{2}$ und $m_I = +\frac{1}{2}$. Die relative Besetzung der beiden Energieniveaus ist im thermodynamischen Gleichgewicht durch die Boltzmannverteilung gegeben:

$$\frac{N_-}{N_+} = \frac{e^{-E_-/kT}}{e^{-E_+/kT}}, \quad (1.4)$$

T ist die Temperatur und k die Boltzmannkonstante. Da der Energieunterschied zwischen den beiden Niveaus $\Delta E = \gamma \hbar B_0$ ist, lässt sich unter der Voraussetzung $|\gamma| \hbar B_0 \ll k T$ für die Gleichgewichtspolarisation angenähert schreiben:

$$P = \tanh \left(\frac{|\gamma| \hbar B_0}{2 k T} \right) \approx \frac{|\gamma| \hbar B_0}{2 k T}. \quad (1.5)$$

In Tabelle 1.1 sind einige Kernspinpolarisationswerte für Xenon-129 und H-1 bei typischen Magnetfeldern gegeben.

Die Gesamtmagnetisierung M (siehe 1.2) ist somit:

$$M \approx \frac{\hbar^2 \gamma^2 N B_0}{4 k T}. \quad (1.6)$$

Da die Magnetisierung M die Signalstärke bestimmt, bestehen nun folgende Möglichkeiten, das NMR-Signal einer Probe zu vergrößern:

1. Erhöhung der Probenkonzentration N .
2. Verringerung der Temperatur T .
3. Erhöhung des Magnetfeldes B_0 .

4. Erhöhung der Kernspinpolarisation P , z.B. durch *Hyperpolarisation* von Edelgasen.

Allerdings sind nicht alle Möglichkeiten einfach zu realisieren. In reinen Gasproben lässt sich die Probenkonzentration N nur so lange erhöhen, bis die Druckgrenze des verwendeten Probenrohrmaterials erreicht ist. Bei den in dieser Arbeit verwendeten Materialien lag diese Grenze bei ca. 70 MPa. Proteinproben lassen sich nicht in beliebiger Menge herstellen und können ebenso wenig beliebig tiefen Temperaturen ausgesetzt werden. Die Erhöhung des Magnetfeldes B_0 ist an die physikalischen Grenzen des supraleitenden Spulenmaterials gebunden. Die maximale Magnetfeldstärke kommerzieller Spektrometer liegt zur Zeit bei 21 Tesla. Die weitaus größte Erhöhung der Magnetisierung erreicht man zur Zeit durch Erhöhung der Kernspinpolarisation von hyperpolarisierten Edelgasen. Allerdings kann der für die NMR wichtigste Kern, der Wasserstoffkern, nicht direkt hyperpolarisiert werden. Dies kann nur durch Polarisationsübertrag von hyperpolarisiertem Xenon-129 oder Helium-3 geschehen, was allerdings noch recht schwierig zu realisieren ist. Ein Kapitel dieser Arbeit beschäftigt sich mit dieser Fragestellung.

1.2 Die chemische Verschiebung

Um Übergänge zwischen den Kern-Zeeman-Niveaus zu induzieren, werden Radiowellen mit der sogenannten *Larmor-Frequenz* mit $\omega_0 = \gamma B_0 = \frac{\Delta E}{\hbar}$ eingestrahlt. Sie beschreibt die freie Präzession eines ungestörten Kernspins um das Magnetfeld B_0 . Im Experiment befinden sich die zu detektierenden Kerne jedoch in der Umgebung von Elektronen und anderer Kerne. Dies führt dazu, dass das lokale Magnetfeld am Ort der zu detektierenden Kerne nicht mit dem äußeren Magnetfeld B_0 übereinstimmt. Dieses leicht veränderte Magnetfeld führt natürlich auch zu einer Änderung der Larmor-Frequenz, die dann durch folgende Gleichung beschrieben wird:

$$\omega = \gamma B_0(1 - \sigma), \quad (1.7)$$

wobei σ die Abschirmungskonstante ist. Die Frequenzdifferenz wird chemische Verschiebung genannt. Da diese Frequenzänderung aber magnetfeldabhängig ist, wird die chemische Verschiebung δ in ppm (parts per million) angegeben. Sie ist definiert durch:

$$\delta/ppm = \frac{\omega_{ref} - \omega}{\omega_0} \cdot 10^6/MHz, \quad (1.8)$$

wobei ω_{ref} die Resonanzfrequenz einer Referenzsubstanz ist. Protonen haben eine chemische Verschiebung von bis zu 20 ppm, Xenon-129 eine Verschiebung von bis zu

300 ppm in Lösungen und bis zu 7500 ppm in manchen Komplexen wie XeO_6^4 .

1.3 Verwendete NMR-Spektrometer

In dieser Arbeit wurden Messungen an einem 300 MHz Festkörper-NMR-Spektrometer (Avance 300), einem 500 MHz Flüssigkeits-NMR-Spektrometer (Avance 500) und einem 800 MHz Flüssigkeits-NMR-Spektrometer (Avance 800) der Firma Bruker (Karlsruhe, Deutschland) durchgeführt, welche Feldstärken von 7,05 T, 11,74 T bzw. 18,70 T besitzen. Die Spektren am 300 MHz-Gerät wurden mit dem Programm XWIN-NMR 3.1 (Bruker), die am 500 MHz-Gerät und am 800 MHz-Gerät mit dem Programm TOPSPIN 1.3 (Bruker) aufgenommen und prozessiert. Die Proben temperatur wurde durch Messung der chemischen Verschiebung von Methanol [7] kalibriert. Die Referenzierung der chemischen Verschiebung von Xenon-129 wurde mittels einer externen Eichprobe durchgeführt. Hierfür wurde eine definierte Menge an Xenon-Gas in ein Probenrohr gefüllt und die dieser Dichte entsprechende chemische Verschiebung [49] am Spektrometer kalibriert (siehe 8.2).

Kapitel 2

Hyperpolarisation von Xenon-129

In den letzten Jahren ist es zunehmend gelungen, durch Verwendung von optischen Methoden die Empfindlichkeit von NMR-Messungen zu erhöhen. Durch optisches Pumpen von Elektronenspins und Spinaustausch auf die Kernspins von Xenon-129 und Helium-3 kann ein hoher Grad an Kernspinpolarisation erreicht werden. Da diese Art von Kernspinpolarisation weit von der Polarisation im thermischen Gleichgewicht (Boltzmann-Gleichgewicht) entfernt ist, tragen solche Gase den Namen *hyperpolarisiert*. Hyperpolarisierte Gase finden derzeit eine stetig wachsende Zahl von Anwendungen in der NMR und MRI. Hyperpolarisiertes Xenon wird zum Beispiel in der Lungen- und Gehirnbildgebung [8, 9] verwendet ebenso wie in der Oberflächen-NMR-Spektroskopie [10] und in der Flüssigkeits-NMR [11, 12, 9]. Bereits in den 50-iger Jahren zeigte Kastler [13], dass zirkular polarisiertes Licht in der Lage ist, gasförmigen Alkalimetall-Dampf *optisch zu pumpen*. Dabei entsteht eine Nichtgleichgewichts-Besetzung der Elektronenniveaus (Nobel-Preis 1984). Die Theorie des Spinübertrags von einem Alkalimetall auf Xenon-129 wurde 1984 von Happer [14] ausführlich dargestellt. Im Nachfolgenden sollen nun die Grundzüge dieser Theorie beschrieben werden, die Details können z. B. in [14] oder [15] nachgelesen werden.

Ein Glaszylinder, in dem sich ein Alkalimetall (Rubidium) und drei Gase (Helium, Stickstoff und Xenon) befinden, wird soweit erhitzt, bis die gewünschte Dichte von Alkalimetалldampf erreicht ist. Dann wird diese Pumpzelle mit zirkular polarisiertem Laserlicht (Wellenlänge entsprechend der D1-Linie, z.B. 794 nm bei Rubidium) bestrahlt, welches vom Alkalidampf absorbiert wird. Die Photonen des Lasers übertragen ihren Impuls auf das Alkalimetall und polarisieren dadurch dessen Valenzelektronen. Durch Stöße zwischen den Alkalimetall-Atomen und den Edelgas-Atomen kommt es zu einem teilweisen Polarisationstransfer von den Elektronen des Rubidiums auf die Kerne des Xenons. Dabei befindet sich die Pumpzelle in einem homogenen

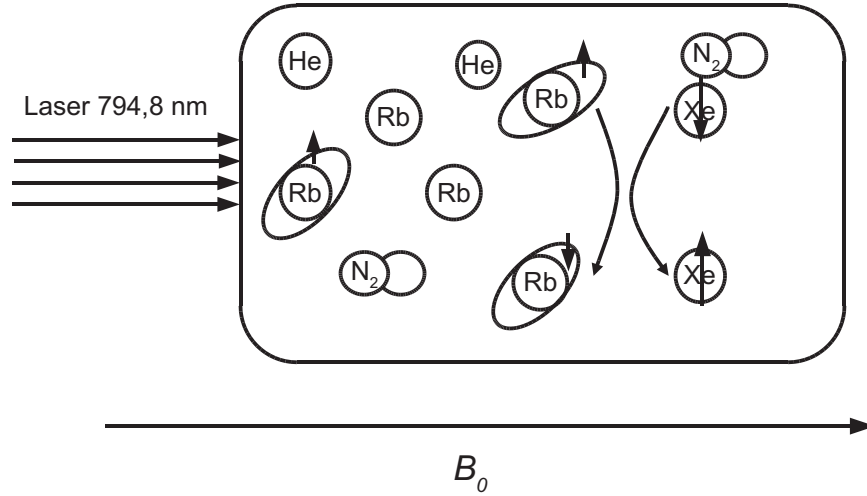


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung einer Pumpzelle. Im linken Teil ist der optische Pumpvorgang dargestellt, im rechten Teil der Polarisationsübertrag von den Rubidium-Atomen auf die Xenon-Atome.

Magnetfeld B_0 . Abbildung 2.1 zeigt schematisch den generellen Ablauf des optischen Pumpens und des Spinübertrags. Dieser Prozess führt schließlich zu hyperpolarisiertem Xenon-129.

Im Nachfolgenden soll nun ausführlicher auf die verschiedenen Schritte des Polarisationsvorgangs eingegangen werden. Es werden die wichtigsten atomphysikalischen Grundlagen zum Verständnis des optischen Pumpvorgangs beschrieben. Außerdem wird auf den Spinübertrag zwischen Rubidium und Xenon eingegangen.

2.1 Optisches Pumpen von Rubidium

2.1.1 Energiezustände des Rubidiums

In dieser Arbeit wird das Alkalimetall Rubidium ($Z = 37$) optisch gepumpt. Eine Lichtquelle (zirkular polarisiert) überführt die Valenzelektronen der Rubidium-Atome in einen angeregten Zustand. Als Alkalimetall besitzt es ein Valenzelektron in der Schale mit der Hauptquantenzahl $n = 5$. Im Grundzustand hat der Bahndrehimpuls \vec{l} die Drehimpulsquantenzahl $l = 0$ und einen Spin \vec{s} mit der Spinkquantenzahl $m_s = \frac{1}{2}$. Da die restlichen Elektronen abgeschlossene Schalen bilden, tragen sie zum elektronischen Drehimpuls nichts bei. Der Gesamtdrehimpuls im Grundzustand \vec{j} , besteht somit nur aus dem Spin und hat deswegen die Gesamtdrehimpulsquantenzahl $j = l + s = \frac{1}{2}$. Der Kern besitzt einen Gesamtdrehimpuls \vec{I} . Jeder der oben

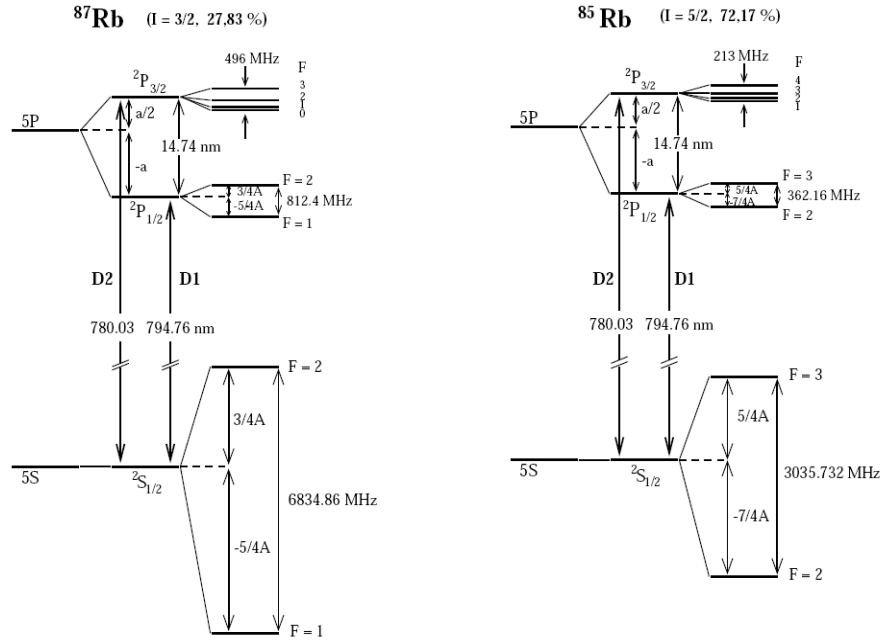


Abbildung 2.2: Die Energieniveaus der beiden im natürlichen Rubidium vorkommenden Isotope Rubidium-85 und Rubidium-87 für die Aufspaltung der S- und P-Niveaus durch die Spin-Bahn-Kopplung (Feinstruktur, jeweils in der Mitte) und der Hyperfeinstruktur (rechts) [16].

beschriebenen Drehimpulse ruft ein magnetisches Moment $\vec{\mu}$ hervor. Die magnetische Wechselwirkung zwischen dem Bahnmoment und dem magnetischen Moment des Spins des Elektrons, die sogenannte Spin-Bahn-Kopplung führt zu einer Feinstrukturaufspaltung der Energieniveaus. Zur Charakterisierung der Energieniveaus ist folgende spektroskopische Bezeichnung üblich: $n^{2S+1}L_J$; dabei bezeichnen S die Quantenzahl des Gesamtspins, L die Quantenzahl des Gesamtbahndrehimpulses sowie J die Quantenzahl des Gesamtdrehimpulses.¹ Das Grundzustandsniveau von Rubidium wird mit $5^2S_{1/2}$ und die beiden Unterniveaus des ersten angeregten Zustands mit $5^2P_{1/2}$ und $5^2P_{3/2}$ beschrieben. Die Wechselwirkung zwischen dem elektronischen magnetischen Moment und dem Kernmoment führt zu einer Kopplung von \vec{J} und \vec{I} und zu einem Gesamtdrehimpuls $\vec{F} = \vec{J} + \vec{I}$. Diese Wechselwirkung bewirkt eine weitere Energieniveaufspaltung, die Hyperfeinstruktur. In Abbildung 2.2 sind die verschiedenen Energieniveaus der beiden Isotope Rubidium-85 und Rubidium-87 zu sehen.

Durch den Spin \vec{s} und das damit verbundene magnetische Moment $\vec{\mu}_s = -g_s \frac{e}{2m_0} \vec{s}$

¹Großbuchstaben gelten für Mehrelektronen-Atome, kleine Symbole für einzelne Elektronen

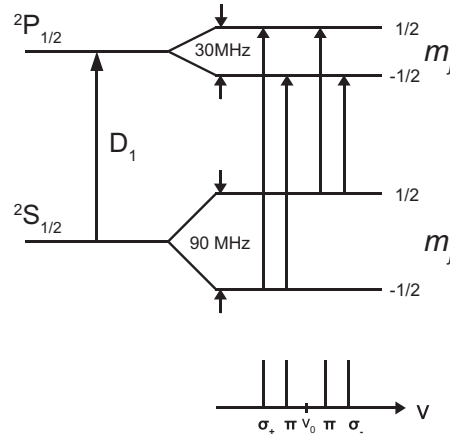


Abbildung 2.3: Zeeman-Linien des D1-Überganges für Rubidium. Es wird die Aufspaltung in einem 3,2 mT starken Magnetfeld dargestellt. Darunter werden die vier Emissionslinien mit ihrer Polarisation bei senkrechter Beobachtung zu B_0 gezeigt.

(LANDEscher g-Faktor, Elementarladung e und Elektronen-Ruhemasse m_0) kommt es zu einer Wechselwirkung des magnetischen Moments $\vec{\mu}_s$ der Elektronen mit einem äußeren Magnetfeld B_0 . Diese Wechselwirkung führt zu einer Aufspaltung der Energieniveaus in $2j+1$ Zeeman-Niveaus und damit zu einer Ausrichtung der Elektronenspins im Magnetfeld. Diese Terme werden durch die Quantenzahl $m_j = j, j-1, \dots, -j$ beschrieben. Der in dieser Arbeit durch das optische Pumpen angeregte Übergang ist der D1-Übergang vom Grundzustand $2S_{1/2}$ in den angeregten Zustand $2P_{1/2}$. Diese beiden Niveaus spalten in einem Magnetfeld B_0 in die Zeeman-Terme mit $m_j = \pm\frac{1}{2}$ auf.

2.1.2 Wechselwirkung von Rubidium und Laserlicht

Strahlt man auf Rubidium-Atome in einem Magnetfeld B_0 rechtszirkular polarisiertes Laserlicht σ_+ der Wellenlänge 794,8 nm ein, wird der erste angeregte Zustand $2P_{1/2}$ mit $m_j = \frac{1}{2}$ selektiv bevölkert. Dieser angeregte Zustand relaxiert mit einer Wahrscheinlichkeit von $\frac{1}{3}$ bzw. $\frac{2}{3}$ in den Grundzustand $2S_{1/2}$ mit $m_{1/2}$ bzw. $m_{-1/2}$. Diese Wahrscheinlichkeiten sind durch die Clebsch-Gordan-Koeffizienten gegeben [17]. Man benötigt also im Durchschnitt 3 Photonen, um ein Rubidium-Atom zu polarisieren. Um diese Ausbeute zu erhöhen, wird dem Gasgemisch Stickstoff beigemischt. Durch Kollision mit den angeregten Rubidium-Atomen werden die angeregten Zustände gemischt und die beiden oben genannten Übergangswahrscheinlichkeiten nehmen jeweils den Wert $\frac{1}{2}$ an. Somit sind im Mittel nur noch 2 Photonen nötig um den Elektronenspin eines Rubidium-Atoms zu polarisieren. In Abbildung 2.4 ist der Pumpvorgang sche-

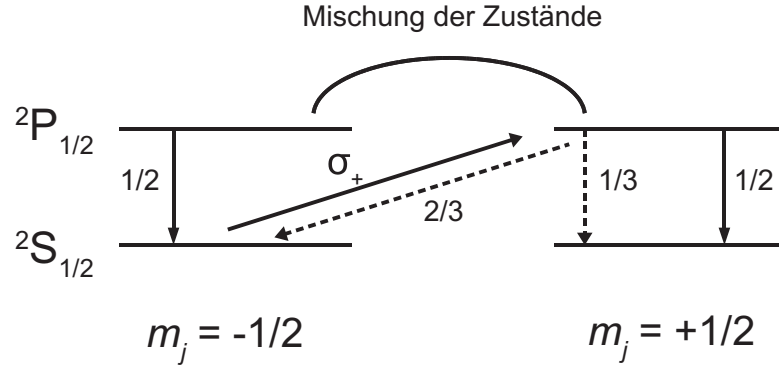


Abbildung 2.4: Schema des optischen Pumpens des D1-Übergangs mit den dazugehörigen Übergangswahrscheinlichkeiten. Die gestrichelten Pfeile zeigen das Verhalten ohne, die durchgehenden Pfeile das Verhalten mit Stickstoff.

matisch dargestellt. Da ein Atom im Grundzustand mit $m_j = \frac{1}{2}$ kein rechts zirkular polarisiertes Licht absorbieren kann, verändert sich das Besetzungszahlverhältnis zugunsten dieses Zustands, bis der Rubidiumdampf völlig durchlässig für das Laserlicht geworden und ein Höchstmaß an Elektronenspinpolarisation erreicht ist.

Das Stickstoffgas erfüllt noch eine weitere Aufgabe. Es dient zur Unterdrückung des sogenannten *radiation trapping*. Da das Fluoreszenzlicht größtenteils nicht rechtszirkular polarisiert ist, würde eine Absorption dieses Lichts die Elektronenspinpolarisation zerstören. Deshalb ist anzustreben, dass die Relaxation der angeregten Zustände strahlungslos erfolgt. Das ist dann der Fall, wenn die freiwerdende Energie durch Stöße mit den Stickstoff-Molekülen (*Quenching-Gas*) zu Schwingungs- und Rotationsenergie dieser Teilchen umgewandelt wird. Da der Quench-Wirkungsquerschnitt $\sigma_Q = 5,8 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2$ [18] zwischen Rubidium und Stickstoff sehr hoch ist und im Gegensatz dazu die Relaxationsratenkonstante κ_{Rb-N_2} zwischen Rubidium und Stickstoff nur bei $9,4 \cdot 10^{-18} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ [19] liegt, eignet sich Stickstoff sehr gut als Quenching-Gas.

Die Linienbreite (**F**ull **W**idth at **H**alf **M**aximum) des hier verwendeten Lasers liegt bei ca. 1,3 nm. Dies ist 5 Größenordnungen mehr als die natürliche Linienbreite $\nu_{na} = 5,7 \text{ MHz}$ [19] des D1-Übergangs. Um den Absorptionsvorgang effizienter zu gestalten, muss deshalb diese Absorptionslinie verbreitert werden. Da die natürliche Linienbreite einer Spektrallinie gleich dem Kehrwert der Lebensdauer τ_a des angeregten Zustands ist, also

$$2 \cdot \Delta\omega = \frac{1}{\tau_a}, \quad (2.1)$$

bietet sich zur Verkürzung der Lebensdauer der angeregten Zustände die Technik der Stoßverbreiterung an. Diese erreicht man durch Zugabe eines Puffergases, da die Stoß-

rate proportional zur Teilchendichte und somit zum Druck ist. Bei der Auswahl des geeigneten Puffergases ist darauf zu achten, dass die sogenannte Spinzerstörungsrate $\kappa_{sd} = \langle \sigma_{sd} v \rangle$ ($\sigma_{sd} v$: Wirkungsquerschnitt für die Kollision von 2 Stoßpartnern mit der Geschwindigkeit v) nicht zu groß ist. Deshalb wird in dieser Arbeit Helium als Puffergas verwendet. Nach [20] entsteht durch Helium eine Druckverbreiterung der D1-Linie von Rubidium von 18 GHz/amagat². Es ist zu beachten, dass sich die Linienverbreiterung bei Gasgemischen aus der Summe der einzelnen Beiträge zur Verbreiterung zusammensetzt. Für Stickstoff und Xenon liegen die Werte bei 17,8 GHz/amagat bzw. 18,9 GHz/amagat, allerdings sind die Konzentrationen beider Gase so gering ($p(N_2) \approx 0,050 \text{ MPa}$, $p(Xe) \approx 0,004 \text{ MPa}$), dass sie zu vernachlässigen sind [20]. Durch den Heliumdruck kommt es außerdem zu einer Verschiebung der Absorptionswellenlänge um 4,3 GHz/amagat, was bei 0,6 MPa Helium einer Verschiebung von 23,65 GHz und somit 0,1 nm entspricht [20] (siehe auch: experimenteller Aufbau).

2.1.3 Relaxationsraten und Ratengleichung des optischen Pumpens

Im Folgenden werden die Relaxationsvorgänge und die daraus resultierende Ratengleichung für das optische Pumpen beschrieben. Entscheidend dafür sind zwei gegensätzliche Prozesse, die durch die sogenannte Spinzerstörungsrate Γ_{SD} der Elektronen charakterisiert werden. Sie besteht aus zwei Anteilen [21]:

$$\Gamma_{SD} = \gamma_{SE} + \sum_i \kappa_{sd}^i [M_i] \quad (2.2)$$

Ratenkonstante	Einheit	Wert	Zitat
κ_{Rb}	cm^3s^{-1}	$3,9 \cdot 10^{-14}, 4,4 \cdot 10^{-14}$	[22],[23]
κ_{Xe}	cm^3s^{-1}	$6 \cdot 10^{-15} \cdot 10.8$	[24]+[25] ³
κ_{N_2}	cm^3s^{-1}	$9 \cdot 10^{-18}$	[19]
κ_{He}	cm^3s^{-1}	$2 \cdot 10^{-18}$	[19]

Tabelle 2.1: Spinaustauschratenkonstanten

Dabei steht γ_{SE} für die Spinaustauschrate zwischen den Elektronen des Rubidiums und den Kernen des Xenons; sie beschreibt somit den Polarisationstransfer zwischen

²Die Dichte von 1 amagat entspricht $2,69 \cdot 10^{19}$ Atomen pro cm^3

³Die Rubidium-Xenon Spinzerstörungsrate, gemessen von Bouchiat [24], muss mit dem sogenannten *nuclear slowing down factor*, (nach Appelt [25]) multipliziert werden.

beiden Atomen. κ_{sd}^i beschreibt die Relaxationsratenkonstanten (Spinzerstörungsrate) für die Wechselwirkung zwischen dem Rubidium und den beteiligten Gasen bzw. dem Rubidium selbst (siehe Tabelle 2.1), die Terme in der eckigen Klammer stehen für die entsprechenden Teilchendichten der beteiligten Stoßpartner. Der zweite in der Pumpzelle ablaufende Prozess ist der Aufbau der Elektronenspinpolarisation und wird beschrieben durch die optische Pumprate γ_{opt} [17].

$$\gamma_{opt} = \int \Phi(\nu) \sigma_{ab}(\nu) d(\nu), \quad (2.3)$$

wobei $\Phi(\nu)$ der Photonenfluß von zirkular polarisiertem Laserlicht ist und σ_{ab} der Absorptionswirkungsquerschnitt für Licht der Frequenz ν .

Somit kann man nun die Differentialgleichung für das zeitliche Verhalten der Zustandswahrscheinlichkeiten $\rho_{Rb}(\pm 1/2)$ für die Besetzung des $^2S_{1/2}$ Zustands mit $m_j = \pm \frac{1}{2}$ aufstellen [19]:

$$\frac{d}{dt} \rho_{Rb}(+1/2) = \left(\frac{\Gamma_{SD}}{2} + \gamma_{opt} \right) \cdot \rho_{Rb}(-1/2) - \frac{\Gamma_{SD}}{2} \cdot \rho_{Rb}(+1/2) \quad (2.4)$$

Unter der Annahme, dass zu Beginn des Pumpvorgangs der Rubidiumdampf völlig unpolarisiert ist, die beiden Besetzungszahlen des Grundzustandsniveaus normiert sind, d. h. $\rho_{Rb}(-1/2) + \rho_{Rb}(+1/2) = 1$, und sich ein Plateauwert für den Maximalwert der Polarisation P_{Rb} einstellt, welcher durch das Gleichgewicht zwischen Photonenabsorption und Relaxation bestimmt wird, erhält man eine Lösung für die Differentialgleichung 2.4 [19]. Definiert man die Polarisation als die Differenz der Wahrscheinlichkeiten $\rho_{Rb}(\pm 1/2)$:

$$P_{Rb} = \rho_{Rb}(+1/2) - \rho_{Rb}(-1/2), \quad (2.5)$$

erhält man für das zeitliche Verhalten der Polarisation der Elektronen des Rubidium-Atoms:

$$P_{Rb}(t) = \frac{\gamma_{opt}}{\gamma_{opt} + \Gamma_{SD}} \cdot (1 - e^{-(\gamma_{opt} + \Gamma_{SD}) t}) \quad (2.6)$$

2.2 Kernspinpolarisation von Xenon-129

Der vorherige Abschnitt beschrieb die Entstehung der Elektronenspinpolarisation von Rubidium. Im folgenden wird nun dargestellt, wie der Polarisationsübertrag von den optisch gepumpten Elektronen des Rubidiums auf die Kerne des Xenon-129 vonstaten geht und zu hyperpolarisiertem Xenon-129 führt.

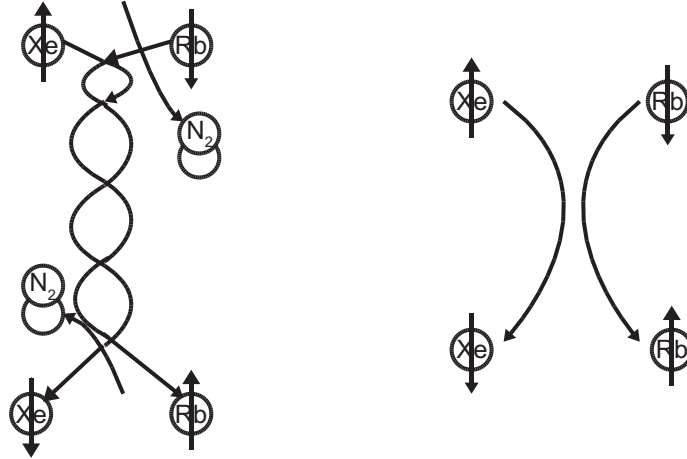


Abbildung 2.5: *Polarisationstransferprozesse. Links: Entstehung und Zerstörung eines Rubidium-Xenon vdW Moleküls. Rechts: Zweierstoß zwischen Rubidium und Xenon.*

2.2.1 Wechselwirkung zwischen Rubidium und Xenon

Prinzipiell gibt es zwei Möglichkeiten des Polarisationsübertrags von den Elektronen des Rubidiums auf die Kerne des Xenons. Einerseits geschieht dies während sich die Atome kurzzeitig unter Einbeziehung eines dritten Partners (Helium oder Stickstoff) zu einem *van der Waals (vdW) Molekül* verbinden und andererseits während einfacher Zweierstöße zwischen Rubidium und Xenon (siehe Abbildung 2.5). Dabei kommt es während dieser Stöße zu einem teilweisen Spintransfer des Rubidium-Elektronenspins auf die Kernspins des Xenons mit einer Wahrscheinlichkeit η von 0.07 [21]. Der Rest des Elektronenspins geht auf die translatorischen Freiheitsgrade der Atome über. Die Austauschrate γ_{se} für den Spintransfer von Rubidium auf Xenon ist gegeben durch [21]:

$$\gamma_{se} = [Rb] \cdot \left(\langle \sigma_{se} v \rangle + \frac{\kappa_{He}}{[He]} \right). \quad (2.7)$$

Der erste Summand in der Klammer ist die Ratenkonstante für den Spinaustausch durch binäre Kollisionen, wobei $\langle \sigma_{se} v \rangle$ zwischen den Werten $0,6 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ [26] und $3,7 \cdot 10^{-16} \text{ cm}^3 \text{ s}^{-1}$ [21] liegt. $\kappa_{He} = 1,7 \cdot 10^4 \text{ s}^{-1}$ [26] hingegen charakterisiert den Spinaustausch während der Bildung von vdW-Molekülen. Die Terme in eckiger Klammer bezeichnen die jeweilige Teilchendichte in amagat. Für Heliumdrücke, wie sie in dieser Arbeit verwendet werden, ist allerdings der zweite Term zu vernachlässigen [15], da es aufgrund der hohen Teilchendichten zu vermehrten Stößen kommt und die vdW-Moleküle nicht lange genug existieren können, um ihre Spins auszutauschen.

2.2.2 Relaxationsraten und Ratengleichungen für hyperpolarisiertes Xenon-129

Ebenso wie es für polarisierte Rubidium-Atome Relaxationsvorgänge gibt, die den Elektronenspin wieder zerstören, existieren auch Relaxationsprozesse für hyperpolarisierte Xenon-Atome. Nach [15] gibt es drei grundlegende Relaxationsmechanismen, welche die Kernspinpolarisation zerstören können. Deshalb definiert man wiederum eine Relaxationsrate Γ :

$$\Gamma = \gamma_{xe\,xe} + \gamma_w + \gamma_m. \quad (2.8)$$

Hierbei beschreibt $\gamma_{xe\,xe}$ die Relaxation durch Xenon-Xenon Stöße. Dieser Relaxationsvorgang wird von Spin-Rotations Wechselwirkungen dominiert. Die entsprechende Relaxationsrate ist nach [15] definiert durch:

$$\gamma_{xe\,xe} = \frac{[\text{Xe-129}]}{2 \cdot 10^5} \text{ s}^{-1} \text{ amagat}^{-1}. \quad (2.9)$$

Hierbei wird die Xenondichte $[\text{Xe-129}]$ in amagat angegeben.

Die zweite Relaxationsrate γ_w steht für die Zerstörung der Kernspinpolarisation durch Kollisionen der Xenon-Atome mit den Wänden der Pumpzelle, weil die Wände grundsätzlich wegen ihrer paramagnetischen Verunreinigungen als Polarisationsssenken zu betrachten sind. In diesbezüglichen Berechnungen geht man meist von 100 %-iger Spinzerstörung an den Wänden aus. Allerdings ist zu vermuten, dass das Xenon seine Kernspinpolarisation erst nach mehreren Stößen mit den Wänden verliert. Diese Relaxationsprozesse sind von großer Bedeutung im gesamten Polarisationsprozess, siehe dazu auch [27]. Ein Vergleich der Kernspinpolarisationen von xenon-129 P_{Xe} bei 100 %-iger Spinzerstörung an den Wänden und bei nur 1 % Spinzerstörung zeigt, dass es dann bei der für diese Arbeit eingesetzten Laserleistung von 23 W zu einer Steigerung der Kernspinpolarisation von 18 % auf 30 % kommen würde, siehe Abbildung 2.6. Da wie oben schon erwähnt, nicht genau bekannt ist, wie schnell die Xenon-Atome ihren Kernspin verlieren und auf grund fehlender experimenteller Daten, wurde bei den Berechnungen mit den zwei extremen Grenzwerten von 1% bzw. 100% Wandrelaxation gerechnet. Die Berechnungen konnten aber in gewisser Weise experimentell bestätigt werden. Um die Wandrelaxation so gering wie möglich zu halten, wurden die Wände der Pumpzelle mit einem Silikat beschichtet (siehe 6.1). Der Vergleich zwischen einer beschichteten Pumpzelle und einer unbeschichteten zeigte, dass die Kernspinpolarisation von Xenon-129 in einer beschichteten Pumpzelle um ca. 15% höher liegt als in einer unbeschichteten.

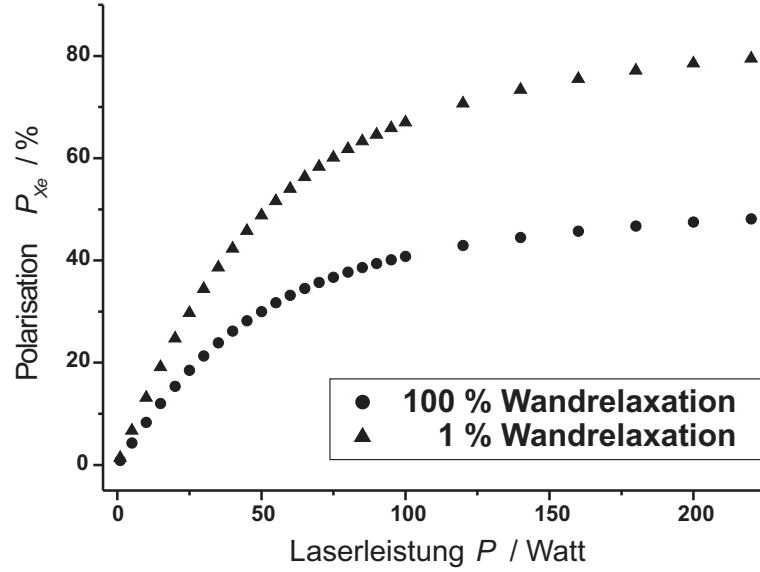


Abbildung 2.6: Berechnungen zur Kernspinpolarisation von Xenon-129 P_{Xe} in Abhängigkeit der Laserleistung P für zwei unterschiedliche Wandrelaxationen [27].

Die dritte Relaxationsrate γ_m beschreibt das Diffusionsverhalten der Kernspins in einem inhomogenen Magnetfeld. Bewegt sich ein Atom in einem solchen Feld, ist sein magnetisches Moment nicht mehr orientiert, da diese Inhomogenität wie ein zusätzliches transversales Magnetfeld wirkt [28]. Daher lässt sich γ_m folgendermaßen berechnen:

$$\gamma_m = \frac{D}{B_0^2} \cdot \left(\frac{dB_x}{dx} \right)^2, \quad (2.10)$$

wobei D die Diffusionskonstante ist und $\frac{dB_x}{dx}$ der Gradient transversal zum angelegten Magnetfeld B_0 .

Damit kann man nun ebenfalls eine Differentialgleichung für das zeitliche Verhalten der Besetzungswahrscheinlichkeiten $\rho(\pm 1/2)$ der Kern-Zeeman-Niveaus mit $m_I = \pm \frac{1}{2}$ aufstellen [17]:

$$\frac{d}{dt}\rho(+1/2) = \left[\frac{\Gamma}{2} + \gamma_{se}\rho_{Rb}(+1/2) \right] \rho(-1/2) - \left[\frac{\Gamma}{2} + \gamma_{sd}\rho_{Rb}(-1/2) \right] \rho(+1/2). \quad (2.11)$$

Um diese Gleichung zu lösen, muss die Kernspinpolarisation wie folgt definiert werden:

$$P_{Xe} = \rho(+1/2) - \rho(-1/2). \quad (2.12)$$

Somit kann man für das zeitliche Verhalten der Kernspinpolarisation von Xenon-129 folgende Gleichung schreiben:

$$P_{Xe}(t) = \frac{\gamma_{se}}{\gamma_{se} + \Gamma} \langle P_{Rb} \rangle (1 - e^{-(\gamma_{se} + \Gamma)t}), \quad (2.13)$$

wobei $\langle P_{Rb} \rangle$ die durchschnittliche Rubidiumpolarisation ist.

Kapitel 3

Spin Polarization-Induced Nuclear Overhauser Effect

Der sogenannte *Spin Polarization-Induced Nuclear Overhauser Effect* (SPINOE) ist die Übertragung von Spinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf andere Kerne. Erstmals zeigten Navon et al. [9] dies am Polarisationstransfer von Xenon-129 auf Protonen des Benzols. Diese Art von Spintransfer kann genutzt werden, um die Austauschraten zwischen Xenon und Molekülen zu messen und damit molekulare Wechselwirkungen zu bestimmen und die chemische und strukturelle Umgebung der Bindungsstellen zu untersuchen. Bis heute wurde der SPINOE für folgende Systeme angewendet: für Materialoberflächen, z.B. [29, 30], für α -cyclodextrin [31], für cryptophan-A [32], für flüssiges Xenon [33], für Materialoberflächen mittels Festkörper-NMR [34, 35] und für ein Lipid-Transfer-Protein [36]. Der SPINOE eignet sich aufgrund der hydrophoben Eigenschaften des Xenons besonders zur Lokalisierung von hydrophoben Kavitäten in Proteinen. Durch die selektive Anreicherung des Xenons in diesen Taschen [37] ist auch eine selektive Signalerhöhung für Protonen nahe der Kavität zu erwarten. Im Folgenden wird kurz auf den theoretischen Hintergrund des SPINOE eingegangen. Eine ausführliche Darstellung ist z.B. bei Song [38] nachzulesen.

Man betrachte zwei Spins I und S ($I = \text{H-1}$ und $S = \text{Xenon-129}$), welche miteinander in dipolarer Wechselwirkung stehen. Das zeitliche Verhalten der beiden gekoppelten Spins kann durch folgende Differentialgleichungen (Solomon-Gleichungen) beschrieben werden:

$$\frac{d\langle I_z \rangle}{dt} = -\rho_I (\langle I_z \rangle - I_0) - \sigma_{IS} (\langle S_z \rangle - S_0), \quad (3.1)$$

$$\frac{d\langle S_z \rangle}{dt} = -\rho_S (\langle S_z \rangle - S_0) - \sigma_{SI} (\langle I_z \rangle - I_0). \quad (3.2)$$

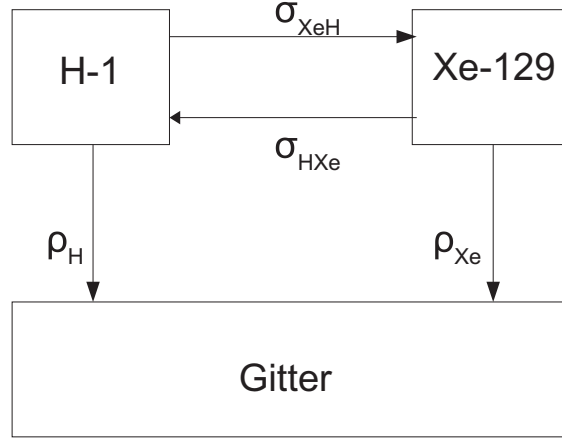


Abbildung 3.1: Schematische Darstellung der Spin-Gitter Relaxationsraten ρ und Kreuzrelaxationsraten σ zwischen hyperpolarisiertem Xenon und Protonen in einem Lösungsmittel.

Dabei bezeichnet $\sigma_I = \frac{1}{T_I^S}$ bzw. $\sigma_S = \frac{1}{T_S^I}$ jeweils die Spin-Gitter-Relaxationsraten der beiden Spins I bzw. S , σ_{IS} und σ_{SI} stehen für die Spinaustauschraten zwischen $I \leftarrow S$ und $S \leftarrow I$, $\langle I_z \rangle$ und $\langle S_z \rangle$ sind die Mittelwerte der z-Komponenten der beiden Kernspinoperatoren \vec{I} und \vec{S} , und I_0 und S_0 sind die dazugehörigen Gleichgewichtswerte. Abbildung 3.1 zeigt eine schematische Darstellung der Spinaustauschprozesse zwischen Xenon-129 und H-1, die in Wechselwirkung miteinander stehen. Die Lösung zu diesen Differentialgleichungen kann in [38] nachgelesen werden.

Nach [39] lässt sich das zeitliche Verhalten der Vergrößerung des Protonensignals $f_H(t)$ durch den SPINOE für Protonen, die mit hyperpolarisiertem Xenon-129 in dipolarer Wechselwirkung stehen, in guter Näherung schreiben als:

$$f_H(t) = -\frac{\gamma_{Xe}}{\gamma_H} f_{Xe}(0) \frac{\sigma_{H Xe}}{\rho_H} (e^{-\rho_{Xe} t} - e^{-\rho_H t}), \quad (3.3)$$

wobei $f_{Xe}(0)$ die Vergrößerung des Xenonsignals durch hyperpolarisiertes Xenon im Vergleich zu thermisch polarisiertem Xenongas ist. Hierbei ist zu beachten, dass es sich um die Spinpolarisation des gelösten Xenongases handelt. Außerdem muss für die Spin-Gitter Relaxationszeiten von Xenon-129 und H-1 gelten: $T_1^{Xe} \gg T_1^H$ (meist gültig für Xenon in Lösung). Eine andere Möglichkeit ist die Aufrechterhaltung der Xenonspinpolarisation durch sogenannten *continuous flow*. Die Kernspinpolarisation P_{Fl} für Xenon-129 erzeugt im Durchfluss-Betrieb und gelöst in einer Flüssigkeit beträgt nach [40]:

$$P_{Fl} \approx \frac{\rho_{ex}}{\rho_{Fl} K + \rho_{ex}} P_0. \quad (3.4)$$

Dabei entspricht ρ_{Fl} der Relaxationsrate T_{Fl}^{-1} von Xenon-129 in der entsprechenden Flüssigkeit und ρ_{ex} der Austauschrate, mit der frisches Xenon in die Flüssigkeit

gebracht wird. K ist eine Konstante definiert durch: $[Xe]_{Fl} = K [Xe]_g$. Hierbei bezeichnet $[Xe]_{Fl}$ die Xenondichte in der Flüssigkeit und $[Xe]_g$ die Xenondichte im Gasfluss. Daraus ergibt sich für hyperpolarisiertes Xenon-129 gelöst in DMSO mit einem Ostwald Koeffizienten von 0,9, einer Durchflussrate von $260 \text{ cm}^3 \text{ min}^{-1}$ bei einem Xenondruck von $0,266 \cdot 10^5 \text{ Pa}$, sowie einem Flüssigkeitsvolumen von 2 cm^3 eine Polarisation P_{Fl} von 17 %.

Die Funktion 3.3 ist in Abbildung 3.2 graphisch dargestellt. Dabei wird der exponentielle Anstieg der beiden Kurven von der Relaxationszeit T_1^H der Protonen bestimmt. Der exponentielle Abfall des Graphen hängt von der Relaxationszeit T_1^{Xe} des gelösten Xenons ab. Die Kurven wurden berechnet für Xenon, gelöst in DMSO. Graph 1 wurde mit $T_1 = \infty$ berechnet. Die nachfolgenden Daten für Graph 2 wurden experimentell ermittelt. Die Relaxationszeit T_1 der Protonen in DMSO beträgt 3 s; somit ist $\rho_H = 1/T_1 = 0,3 \text{ s}^{-1}$. Die T_1 -Zeiten für Xenon, gelöst in deuteriertem DMSO und DMSO betragen 228 s und 71 s. Das heißt, die Spin-Gitter-Relaxationsrate ρ_{Xe} wird dominiert durch Xenon-Proton-Wechselwirkungen und weniger beeinflusst durch Xenon-Xenon-Wechselwirkungen. Aus den beiden Relaxationszeiten des Xenon, gelöst in DMSO, ergeben sich die dazugehörigen Relaxationsraten $\rho_{Xe}(\text{DMSO}) = 1,4 \cdot 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ und $\rho_{Xe}(\text{d-DMSO}) = 4,4 \cdot 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. Nach [38] gilt:

$$\sigma_{XeH} = \frac{\rho_{XeH}}{2} \approx \frac{\Delta\rho_{Xe}}{2} \quad (3.5)$$

mit $\Delta\rho_{Xe} \equiv \rho_{Xe}(\text{DMSO}) - \rho_{Xe}(\text{d-DMSO})$ und

$$\frac{\sigma_{HXe}}{\sigma_{XeH}} = \frac{N_{Xe}}{N_H}. \quad (3.6)$$

Somit ergibt sich aus Gleichung 3.5

$$\sigma_{HXe} \approx \frac{N_{Xe}}{2N_H} \Delta\rho_{Xe}. \quad (3.7)$$

Nun kann man, wenn die Löslichkeit von Xenon bekannt ist, den zu erwartenden SPINOE für Xenon in einem Lösungsmittel berechnen. Man kann aber auch, wenn man das zeitliche Verhalten des SPINOE experimentell bestimmt, die Spinaustauschraten zwischen Xenon und den Protonen in der Lösung bestimmen.

Um die SPINOE-Signale zu messen, würde es prinzipiell genügen, ein Differenzspektrum aufzunehmen. Dabei wird das H-1-Gleichgewichtssignal vom SPINOE-Signal subtrahiert. Wegen der kurzen T_1 -Zeiten für Protonen und der relativ kleinen Menge an gelöstem Xenon in den meisten Lösungsmitteln ist aber das SPINOE-Signal nur um einige Prozent größer als das Gleichgewichtssignal. Deshalb lassen sich keine zuverlässigen Differenzspektren bilden. Darum wurde in dieser Arbeit eine Pulssequenz

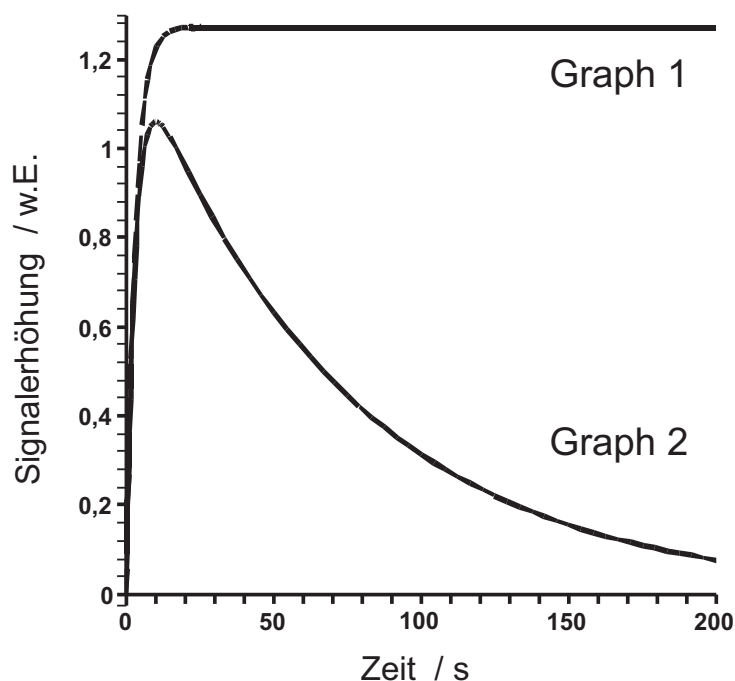


Abbildung 3.2: Berechnung des zeitlichen Verhaltens des SPINOE-Signals für Xenon gelöst in DMSO. Der exponentielle Anstieg wird durch T_1^H bestimmt, der exponentielle Abfall durch T_1^{Xe} . Graph 1 beschreibt das zeitliche Verhalten für ein System, das im Durchfluss-Betrieb betrieben wird, d.h. für das gilt: $T_1^{Xe} = \infty$. Die exponentiell abfallende Kurve beschreibt das sogenannte single-batch-Experiment.

von Berthault et al.[36] in leicht abgewandelter Form verwendet (siehe Ergebnisse) und damit ein SPINOE für Toluol sowie zum ersten mal für die Aminosäure L-Tyrosin und für die Austauschmutante I14A des HPr-Proteins gemessen.

Kapitel 4

Suszeptibilitäts-Effekte in der Xenon-129 NMR-Spektroskopie

Das nachfolgende Kapitel beschäftigt sich mit der Frage, ob Suszeptibilitäts-Effekte, wie sie bei [41] für hoch protonierte NMR-Proben beschrieben werden, auch einen Einfluss auf die Xenon-129 und H-1-NMR-Messungen in dieser Arbeit haben. Speziell erhob sich die Frage, ob und in welcher Weise die dipolaren Felder, welche aus der hohen Xenonkernspinpolarisation resultieren, die Spektren beeinflussen können.

Wie bereits in Kapitel 1.2 beschrieben, hängt die Resonanzfrequenz der zu detektierenden Kerne stark von ihrer Umgebung ab. Dadurch herrscht an deren Ort ein Magnetfeld B_L , das sich vom angelegten Magnetfeld B_0 unterscheidet. Um B_L in Relation zu B_0 setzen zu können, muss die damit verbundene Magnetisierung M der Probe mit in Betracht gezogen werden. Diese Magnetisierung ist abhängig von der Suszeptibilität χ_v der Probe und dem angelegten Magnetfeld B_0 . Nach [41] ergibt sich für das Magnetfeld in einer NMR-Probe:

$$B_L = (1 + (\frac{1}{3} - \alpha)\chi_v)B_0. \quad (4.1)$$

Dabei ist α der Entmagnetisierungsfaktor, welcher von der Form der Probe abhängt und für den Fall eines zylindrischen NMR-Probenrohrs mit parallel zum Magnetfeld gerichteter Längsachse gleich Null gesetzt werden kann. Der Faktor $\frac{1}{3}$ steht für eine hypothetische Lorentz-Kavität um den betrachteten Spin. Die Suszeptibilität χ_v hat einen para- bzw. diamagnetischen Anteil, der von den Elektronen herrührt, sowie einen kleinen Anteil χ_n , der vom Kernparamagnetismus stammt. Die Kernmagnetisierung M_N im thermischen Gleichgewicht lässt sich folgendermaßen angeben:

$$M_{NEq} = \frac{\chi_n B_0}{\mu_0}. \quad (4.2)$$

Nach einem Hochfrequenzpuls, der die Magnetisierung um einen Winkel β dreht, ändert sich das magnetische Feld in der Probe und somit auch die Resonanzfrequenz. Also ergibt sich nach der Einstrahlung eines Hochfrequenzpulses eine Verschiebung der Resonanzfrequenz ν_0 um $\Delta\nu$ [41] auf grund der Suszeptibilität der Probe:

$$\Delta\nu = -\frac{1}{3}(1 - \cos\beta)\chi_n \nu_0. \quad (4.3)$$

Für Kerne mit Kernspin $I = 1/2$ lässt sich für die kernmagnetische Suszeptibilität schreiben:

$$\chi_n = \frac{1}{2} \mu_0 \frac{N}{V} \frac{h}{2\pi} \gamma_I P \frac{1}{B_0}, \quad (4.4)$$

mit Induktionskonstante μ_0 , Teilchendichte $\frac{N}{V}$ und Planck'scher Konstante h .

Damit lässt sich nun die zu erwartende Verschiebung der Resonanzfrequenz auf grund von Suszeptibilitäts-Effekten berechnen. Im nachfolgenden werden verschiedene Fälle betrachtet:

- Als erstes wird die Resonanzverschiebung für eine Gasprobe mit 1,5 MPa Xenon im thermischen Gleichgewicht betrachtet. Dies geschieht im Vorgriff auf Kapitel 10.1, in dem die Inversion eines Xenon-129-NMR-Signals beschrieben wird. Die dabei auftretende Verschiebung der Resonanzfrequenz stammt laut [41] nicht nur vom *radiation damping* (siehe 10.1), sondern auch von den in diesem Kapitel beschriebenen Suszeptibilitäts-Effekten.

Aus Gleichung 4.4 ergibt sich für eine Xenongasprobe mit 1,5 MPa Druck und einem Magnetfeld von 11,74 T im thermischen Gleichgewicht eine magnetische Suszeptibilität χ_n von $1,5 \cdot 10^{-12}$. Nach Gleichung 4.3 führt dies zu einer Resonanzverschiebung von 0,0001 Hz. Bei Linienbreiten von ca. 35 Hz spielt dieser Effekt bei den in Kapitel 10.1 beschriebenen Messungen zur Inversion des Xenonsignals keine Rolle.

- Als nächstes werden die Einflüsse der Suszeptibilität auf die Resonanzfrequenz von hyperpolarisiertem Xenon-129 betrachtet. Sammelt man Xenon aus 4 nacheinander ausgeführten *single-batch*-Experimenten ergibt sich ein Xenondruck von ca. 0,34 MPa im Probenrohr. Bei einer Kernspinpolarisation von 15 % ergibt sich somit eine kernmagnetische Suszeptibilität von $5 \cdot 10^{-9}$ und damit eine Resonanzverschiebung von 0,73 Hz, was bei einem 11,74 T NMR-Spektrometer einer chemischen Verschiebung von 0,005 ppm entspricht. Bei typischen Linienbreiten von mehreren Hertz für die Xenonresonanzlinie spielt dieser Effekt auch hier nur eine geringe Rolle.
- Ein weiterer sehr interessanter Fall ist der Einfluss der Suszeptibilität auf die Resonanzfrequenz der Protonen bei einem SPINOE-Experiment. Dabei wird die

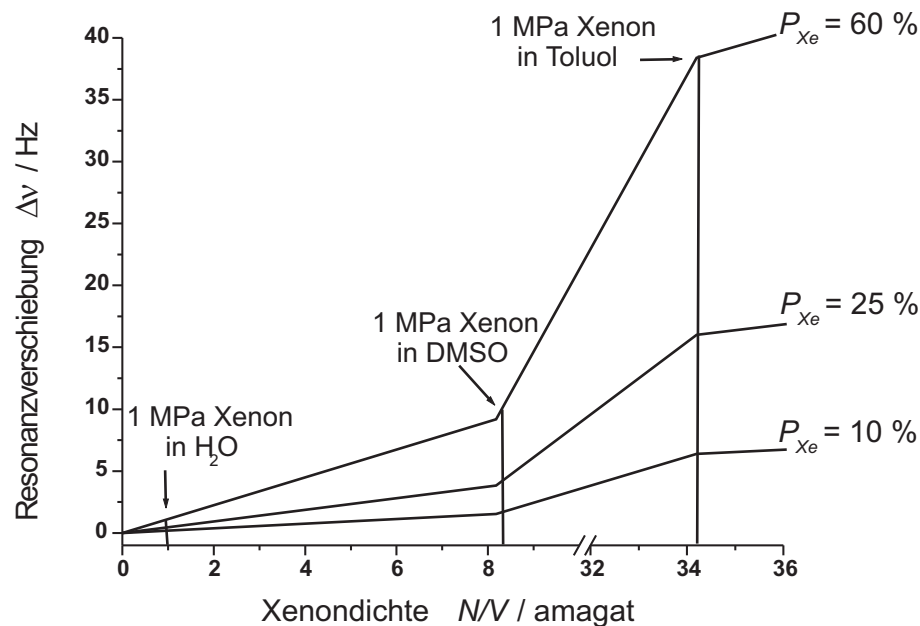


Abbildung 4.1: Resonanzverschiebung $\Delta\nu$ der Protonenresonanz bei SPINOE-Experimenten in Abhängigkeit von der Xenondichte am 500 MHz Spektrometer. Angegeben sind die Werte für drei verschiedene Xenonkernspinpolarisationswerte und für drei verschiedene Lösungsmittel.

Menge an Xenongas von 4 *single-batch*-Experimenten im Probenrohr angesammelt. Für wässrige Lösung erhält man unter der Voraussetzung, dass sich das Xenongas komplett in H_2O löst, eine Xenonkonzentration von $9 \cdot 10^{24}$ Teilchen pro m^{-3} . Somit ergibt sich bei einem Magnetfeld von 11,74 T und einer Kernspinpolarisation von 15% eine kernmagnetische Suszeptibilität von $5,6 \cdot 10^{-10}$. Dies hat eine Verschiebung der Protonenresonanz von 0,1 Hz bzw. 0,0002 ppm, zur Folge. Auch diese Verschiebung kann nicht aufgelöst werden.

- Führt man das SPINOE-Experiment jedoch am 800 MHz Spektrometer mit 1 MPa Xenon gelöst in DMSO durch, ergibt sich eine Suszeptibilität von $8 \cdot 10^{-9}$ und eine Resonanzverschiebung der Protonen um 2,4 Hz. Bei typischen Linienbreiten von ca. 2 Hz kann der Einfluss der Suszeptibilität dann nicht mehr vernachlässigt werden.

Also zeigt sich, dass bei den im Folgenden beschriebenen Experimenten der Einfluss der Suszeptibilität auf die Resonanzfrequenzen von Xenon-129 oder H-1 zu vernachlässigen ist.

In Abbildung 4.1 ist die Frequenzverschiebung $\Delta\nu$ der Protonenresonanz bei SPINOE-Experimenten für unterschiedliche Xenonkernspinpolarisationswerte und verschiedene Lösungsmittel abgebildet.

Kapitel 5

Biophysikalische Eigenschaften von Xenon

5.1 Xenon

Das einatomige Edelgas Xenon, dessen Name vom griechischen Wort *xenos* (fremd) abgeleitet ist, wurde 1898 von William Ramsay und Morris Travers als Nebenprodukt bei der genaueren Untersuchung des aus Luft gewonnenen Rohargons entdeckt. Es kommt in der Atmosphäre mit einer Häufigkeit von 0,087 ppm vor, hat ein Atomgewicht von 131,29 sowie 9 stabile Isotope. Dabei sind Xenon-129 mit einer natürlichen Häufigkeit von 26,44 % und Xenon-131 mit 21,29 % die am häufigsten vorkommenden Isotope [42]. Der Atomdurchmesser von Xenon beträgt 4,42 Ångström. Wegen seiner abgeschlossenen äusseren Elektronenschalen weist Xenon eine geringe chemische Reaktionsfähigkeit auf. Die große und hoch polarisierbare Elektronenhülle macht Xenon stark lipophil [43]. In Abbildung 5.1 ist das Phasendiagramm von Xenon zu sehen. Bei Normaldruck und Raumtemperatur liegt es im gasförmigen Zustand vor, kann aber wegen seines Siedepunktes (165,1 K bei 0,1 MPa) und seines Schmelzpunktes (161 K bei 0,1 MPa) sehr leicht in den flüssigen bzw. festen Zustand übergeführt werden. Der kritische Punkt von Xenon liegt bei 5,83 MPa und 289,7 K, d. h. schon bei relativ geringem Druck liegt Xenon bei Raumtemperatur als *superkritisches* Medium vor. Daher wird Xenon im flüssigen oder superkritischen Zustand als Lösungsmittel eingesetzt [44, 45]. Außerdem eignet es sich auf grund der langen T_1 -Relaxationszeit von mehreren hundert Sekunden für superkritisches Xenon [44] und bis zu 20 Minuten in flüssigen Xenon [33] prinzipiell als sehr gutes Lösungsmittel zur Untersuchung des Polarisationsübertrags auf andere Kerne, siehe z. B. [45].

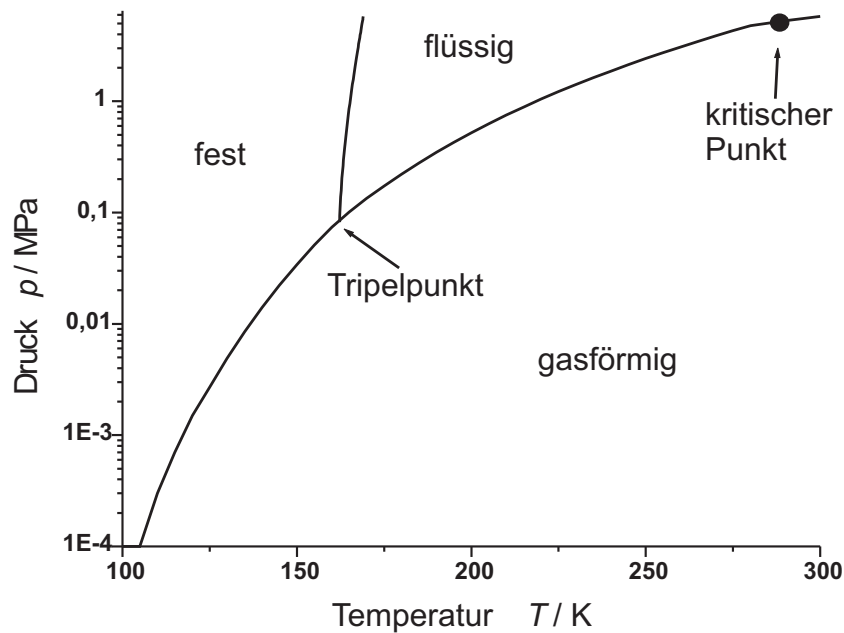


Abbildung 5.1: Phasendiagramm von Xenon. Der Tripelpunkt liegt bei $161,3\text{ K}$ und $0,13\text{ MPa}$, der kritische Punkt bei $289,7\text{ K}$ und $5,83\text{ MPa}$ [46].

5.2 Löslichkeit von Xenon

Die Löslichkeit von Xenon hängt neben der Art des Lösungsmittels auch von der Temperatur und dem Druck des Xenongases ab. Die Löslichkeit ist besonders groß für organische Lösungsmittel (siehe Tabelle 5.1) und nichtpolare Lösungsmittel. Tabelle 5.1 zeigt auch den stark lipophilen Charakter von Xenon. Diese gute Löslichkeit in Lipiden ist der wahrscheinliche Grund für die anästhetische Wirkung von Xenon. Es ist in der Lage, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Dagegen ist die geringe Löslichkeit von Xenon in Wasser darauf zurückzuführen, dass Edelgase hydrophob sowie ladungsneutral und nichtpolar sind und deshalb neutrale und unpolare Umgebungen wie Lipide vorziehen. Somit kann Xenon auch in Zellmembranen, die aus Phospholipidschichten bestehen, eindringen. In dieser Arbeit wurde dies am Beispiel der Phospholipide DHPC/DMPC gezeigt.

5.3 Chemische Verschiebung von Xenon-129

Die sehr empfindliche chemische Verschiebung von Xenon-129 lässt sich auf die große Anzahl von Elektronen zurückführen, die den Kern abschirmen. Wird die Elektronenhülle gestört, äußert sich dies in einer sehr empfindlichen Änderung der chemi-

Lösungsmittel	Ostwald Koeffizient
Hexanol	4,7
Toluol	3,7
Benzol	3,1
Öl	1,9
Fettgewebe	1,3
DMSO	0,9
Wasser	0,1

Tabelle 5.1: *Löslichkeit von Xenon in verschiedenen Lösungsmitteln. Der Ostwald'sche Löslichkeitskoeffizient ist definiert als das Verhältnis des Volumens des gelösten Xenons zum Volumen des Lösungsmittels bei Raumtemperatur und 0,1 MPa Druck. Alle Werte sind aus [43] entnommen, der Wert für DMSO wurde durch eine eigene Messung bestimmt.*

schen Verschiebung. Die chemische Verschiebung von Xenon erstreckt sich über einen Bereich von bis zu 300 ppm in Lösung und über 7000 ppm in chemischen Verbindungen, siehe Abbildung 5.2. Zur Referenzierung wird die chemische Verschiebung von Xenongas auf die Dichte Null extrapoliert. Die chemische Verschiebung von Xenongas in Abhängigkeit von der Gasdichte und der Temperatur wurde für Dichten bis 250 amagat erstmalig von Jameson [47, 48] bestimmt. Eigene Messungen haben diese Abhängigkeit auf Xenondichten bis 400 amagat bei 298 K ausgeweitet [49]. Das Ergebnis unserer Messungen ist in Abbildung 5.3 zu sehen. Um den Verlauf der Kurve zu beschreiben, musste die Gleichung von Jameson auf eine Gleichung fünfter Ordnung erweitert werden. Somit ist die chemische Verschiebung δ definiert durch:

$$\delta/\text{ppm} = \sigma_1\rho + \sigma_2\rho^2 + \sigma_3\rho^3 + \sigma_4\rho^4 + \sigma_5\rho^5 \quad (5.1)$$

$$\text{mit } \sigma_1 = (+0,509 \pm 0,030) \quad \text{ppm/amagat}$$

$$\sigma_2 = (+0,989 \pm 0,050) \cdot 10^{-3} \quad \text{ppm/amagat}$$

$$\sigma_3 = (-0,178 \pm 0,015) \cdot 10^{-4} \quad \text{ppm/amagat}$$

$$\sigma_4 = (+0,653 \pm 0,010) \cdot 10^{-7} \quad \text{ppm/amagat}$$

$$\sigma_5 = (-0,700 \pm 0,010) \cdot 10^{-10} \quad \text{ppm/amagat},$$

wobei ρ in amagat anzugeben ist.

Mit steigender Dichte nehmen die Xenon-Xenon-Kollisionen, also die Einflüsse auf die Elektronen und somit auch die chemische Verschiebung zu. Bis ca. 100 amagat liegt eine lineare Abhängigkeit vor, die durch einfache Zweierstöße zwischen den Xenon-Atomen hervorgerufen wird. Die Abweichung von der Linearität bei höheren Drücken wird durch Dreierstöße verursacht. Wechselwirkung mit den Wänden spielt nur bei

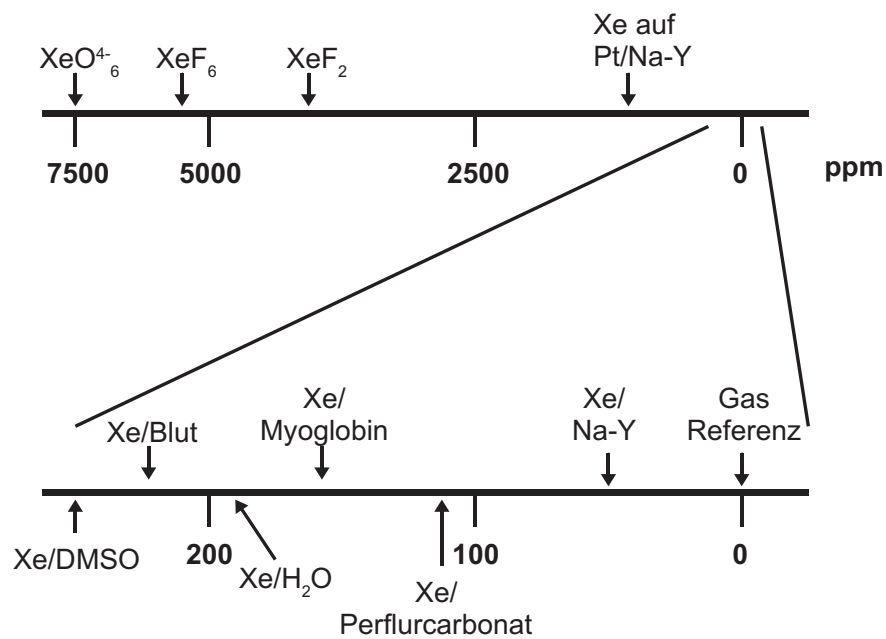


Abbildung 5.2: Die chemische Verschiebung von Xenon in Lösung und Festkörpern, [50].

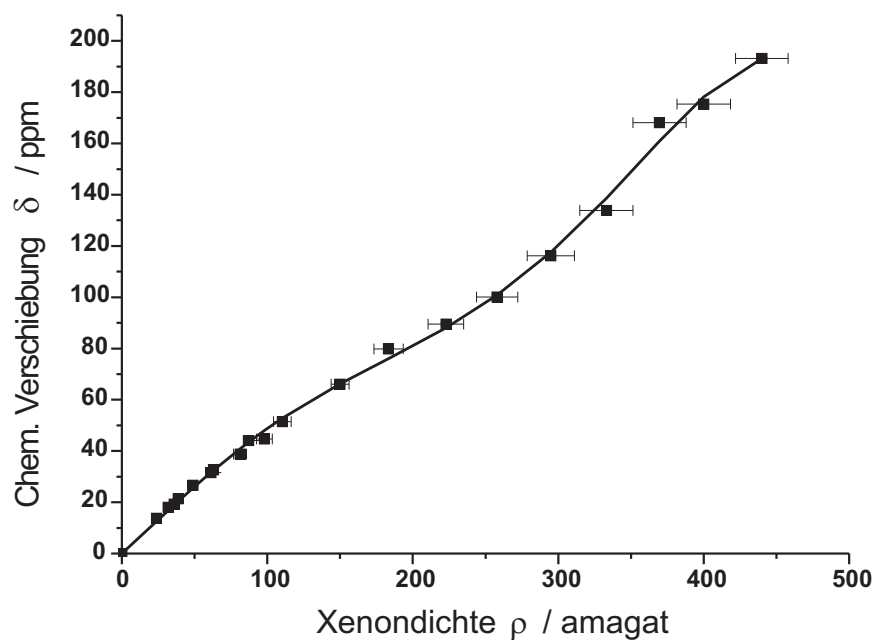


Abbildung 5.3: Chemische Verschiebung δ von Xenon-129 in Abhängigkeit von der Xenondichte ρ bei 298 K.

Lösungsmittel	chemische Verschiebung /ppm	
Methanol	148,0	[51]
Ethanol	165,0	[51]
Aceton	175,0	[51]
Toluol	188,5	(e. M.)
DHPC/DMPC ¹	188,5	(e. M.)
Wasser	190,9	(e. M.)
Albumin	194,7	(e. M.)
DMSO	243,5	(e. M.)

Tabelle 5.2: *Chemische Verschiebung von Xenon-129 in verschiedenen Lösungsmitteln, (e. M.: Eigene Messung).*

sehr geringen Dichten eine Rolle.

Wie oben schon erwähnt, reagiert die Elektronenhülle des Xenons sehr empfindlich auf Wechselwirkungen mit der chemischen Umgebung der Xenon-Atome. In Lösung sind es die Lösungsmittelmoleküle, welche die Elektronenhülle des Xenons deformieren. Somit reagiert die Resonanzfrequenz ebenso empfindlich auf verschiedene Lösungsmittel und es kommt zu sehr unterschiedlichen chemischen Verschiebungen für Xenon in Lösung. Deshalb sind in Tabelle 5.2 einige Beispiele für die chemische Verschiebung von Xenon-129 in Lösungen angegeben.

5.4 Beispiel für die Verwendung von superkritischem Xenon in der Flüssigkeits-NMR

Superkritisches Xenon bietet -über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinaus- zahlreiche interessante Anwendungen in der NMR-Spektroskopie. In unserer Arbeitsgruppe wurden beispielsweise erstmalig Xenon-129 NMR-Messungen von inversen Mizellen (geformt aus Natrium-bis-(2-ethylhexyl)-sulfosuccinat(AOT)) gelöst in superkritischem Xenon durchgeführt. Es gelang ebenfalls zum ersten Mal, kleine und große Biomoleküle, wie die Aminosäure Glycin und die Proteine Lysozym und Trypsin, in inverse Mizellen (gelöst in superkritischem Xenon) einzuschließen [52]. Dabei wurden NMR-Proben mit superkritisches Xenon bis zu einem Druck von 70 MPa hergestellt, sowie die optimalen Bedingungen zur Bildung von inversen Mizellen studiert. In Abbildung 5.4 ist ein zugeordnetes H-1 NMR-Spektrum inverser Mizellen gelöst in superkritischem Xenon zu sehen.

¹Dihexanoyl Phosphatidylcholin (DHPC), Dimyristoyl Phosphatidylcholin (DMPC)

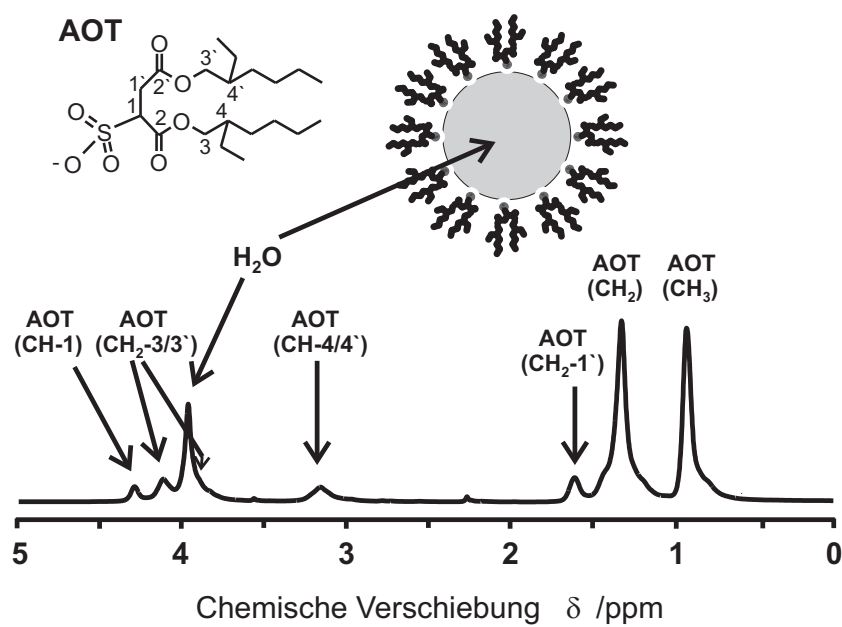


Abbildung 5.4: ^1H NMR-Spektrum von inversen Mizellen, geformt aus 50 mM AOT in superkritischem Xenon bei 15 MPa und 298 K [52].

Teil III

Experimentelles

Kapitel 6

Experimenteller Aufbau

Ein wesentlicher Teil der vorliegenden Arbeit bestand in dem Aufbau und der Optimierung einer Apparatur zur Erzeugung von hyperpolarisiertem Xenon. Im Folgenden wird der experimentelle Aufbau der Anlage zur Hyperpolarisation von Xenon-129 beschrieben, die in Anlehnung an Driehuys et al. [21] in Zusammenarbeit mit der mechanischen Werkstatt der biologischen Fakultät konstruiert wurde, ebenso wie die für die NMR-Messungen nötige Hochdruckmessapparatur.

6.1 Die Apparatur zur Polarisation des Xenongases

Abbildung 6.1 zeigt eine schematische Darstellung der entwickelten Anlage. Wie schon in der Theorie ausführlich erläutert, wird das Xenon indirekt hyperpolarisiert. Dies geschieht durch optisches Pumpen des Leuchtelektrons des Rubidiums (D1-Linie) und anschließenden Polarisationstransfer von den Elektronen auf die Kernspins des Xenon-129. Das zirkular polarisierte Laserlicht trifft auf die gläserne Pumpzelle, welche sich in einem Ofen befindet. Der Glaszylinder enthält Rubidiumdampf, Stickstoff, Helium und Xenon. Nach dem Ende des Pumpvorgangs gelangt das Gasgemisch über einen PVC-Schlauch in die gläserne Kühlfalle. Das Xenon friert aus, wohingegen Stickstoff und Helium gasförmig bleiben und vom System abgepumpt werden. Wenn das gesamte Xenon ausgefroren ist, wird es mit heißem Wasser wieder aufgetaut und in die Hochdruckmessapparatur umgefroren. Danach kann es zum NMR-Spektrometer transportiert werden. Da sich das Hochdruckrohr ebenfalls in flüssigem Stickstoff und im homogenen Magnetfeld eines Hufeisenmagneten befindet, kann das hyperpolarisierte Xenon ohne nennenswerte Polarisationsverluste (siehe 6.1.5) transportiert werden.

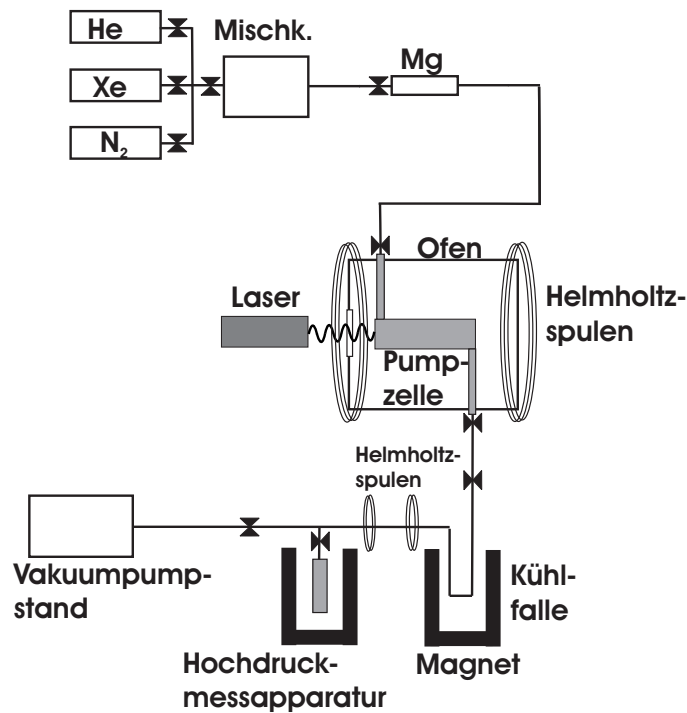


Abbildung 6.1: Schematische Darstellung der Anlage zur Erzeugung von hyperpolarisiertem Xenon-129.

Im Nachfolgenden werden die einzelnen Komponenten des Systems ausführlich beschrieben.

6.1.1 Das Lasersystem

Das Lasersystem besteht aus einem Halbleiterdiodenlaser und einem Polarisator (siehe Abbildung 6.3) der Firma Coherent (Dieburg, Deutschland). Der Laser ist ein so genanntes *FAP-System* (**F**iber **A**rray **P**ackaged-System). Die Halbleiterlaser-Barren sind als Breitstreifen-*Quantum-Well*-Halbleiterlaser ausgeführt. Auf den 19 Breitstreifen-Emittern ist jeweils eine Glasfaser aufgesetzt. Diese werden in einem SMA-Stecker zusammengeführt, von dem das Laserlicht in eine Multimodenfaser mit einem Kerndurchmesser von $800\text{ }\mu\text{m}$ geführt wird [53]. Auf das Gehäuse des Geräts wird eine armierte, 5 m lange Glasfaser mit einem Durchmesser von $800\text{ }\mu\text{m}$ aufgeschraubt und mit dem Polarisator verbunden, der u.a. den Laserstrahl auf ca. 2 cm aufweitet. Der Laser besitzt eine Ausgangsleistung von 25 Watt bei einer Zentralwellenlänge (λ_Z) von 794,8 nm und eine Linienbreite (FWHM) von ca 1,3 nm. Die Laserleistung wird mit einem Powermeter der Firma Ophir Optonics (USA) gemessen. Bei dem in der

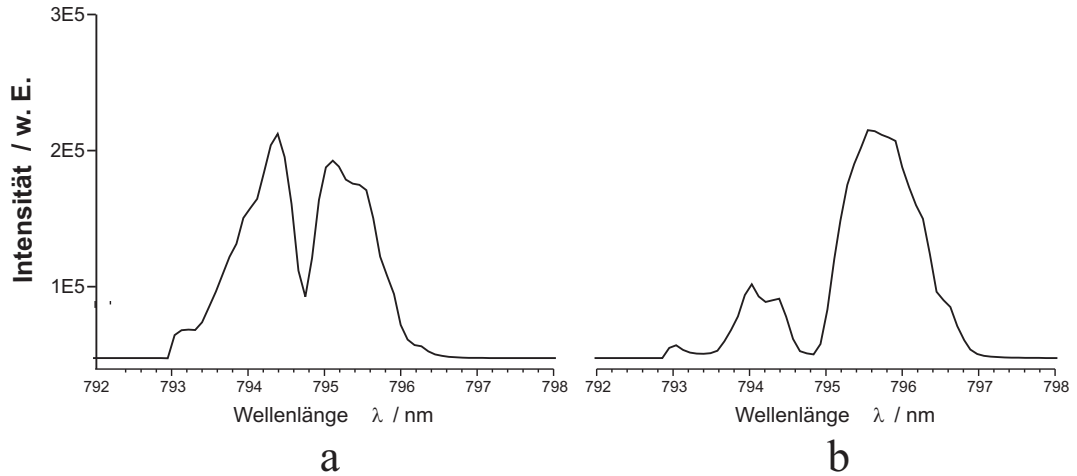


Abbildung 6.2: a) Emissionsspektrum mit $\lambda_Z = 794,7 \text{ nm}$ bei $p_g = 0,65 \text{ MPa}$
 b) Emissionsspektrum mit $\lambda_Z = 794,8 \text{ nm}$ bei $p_g = 0,65 \text{ MPa}$.

Pumpzelle herrschenden Gesamtdruck von $p_g = 0,65 \text{ MPa}$ kommt es zu einer Verschiebung der Zentralwellenlänge um $23,65 \text{ GHz}$ auf $794,7 \text{ nm}$ wie es in [20] beschrieben und wie auch durch eigene Messungen bestätigt werden konnte, siehe Abbildung 6.2. Deshalb musste die Emissionswellenlänge korrigiert werden. Um dies zu erreichen, wurde der Diodenstrom von $34,6 \text{ A}$ auf $33,2 \text{ A}$ verringert. Allerdings geht dabei auch die Ausgangsleistung des Lasers auf 23 W zurück.

Um eine möglichst hohe Rubidium-Elektronenspinpolarisation zu erhalten, muss das Laserlicht rechtszirkular polarisiert sein (siehe 2.1.1), denn jedes nicht rechts zirkular polarisierte Photon würde einen anderen als den angestrebten Übergang anregen und die Rubidiumspinpolarisation senken. Der von der Firma Coherent gelieferte Polarisator garantiert einen zirkularen Polarisationsgrad von mindestens 95%.

6.1.2 Das optische Spektrometer

Um den optischen Pumpvorgang überwachen und auf mögliche Fehler reagieren zu können, wird ein optisches Spektrometer eingesetzt. Das *High-Resolution Miniature Fiber Optic Spectrometer* HR2000 (Firma OceanOptics, Inc., Dunedin, USA), ist ein sehr kleines Spektrometer zur Detektion des Laserstrahls, welches aufgrund seiner hohen Auflösung von bis zu $0,035 \text{ nm}$ besonders gut zur Detektion des Laserprofils während des optischen Pumpens geeignet ist. Ein wichtiges Indiz zur Beurteilung des Pumpvorgangs ist das Entstehen des sogenannten *Dips* im Emissionsspektrum

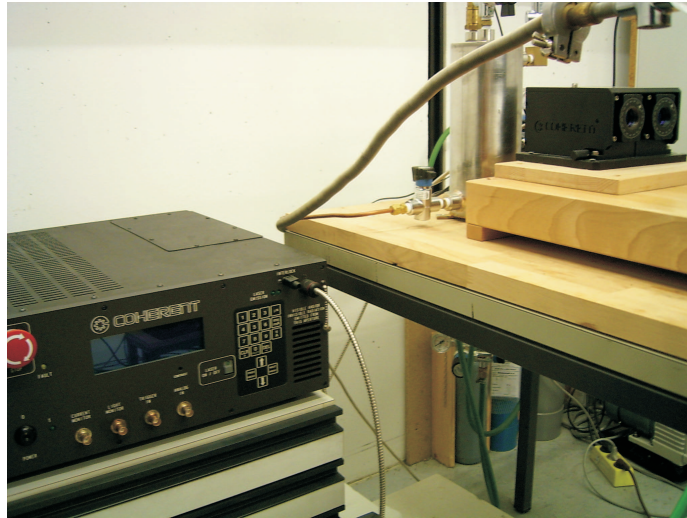


Abbildung 6.3: Laser (links) mit Polarisator (rechts).

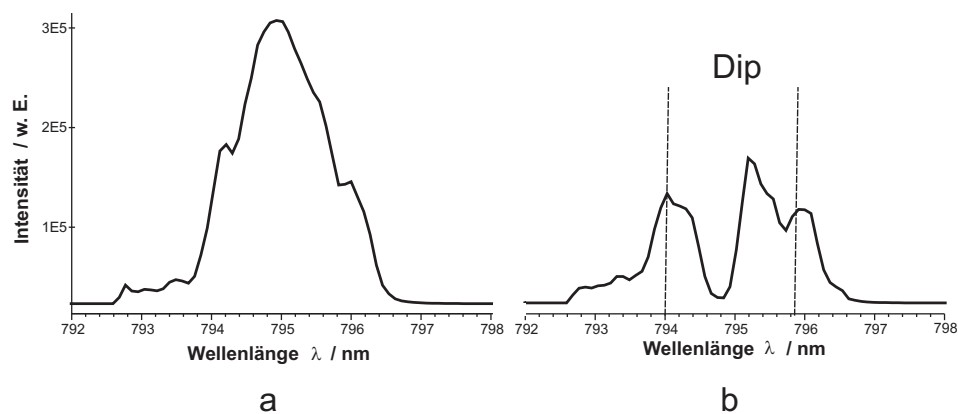


Abbildung 6.4: a) Emissionsspektrum des Lasers b) Emissionsspektrum mit gekennzeichnetem Dip.

(entspricht der Verringerung der Intensität des Laserlichts als Folge der Absorption der Rubidium-Atome, siehe Abbildung 6.4). Mit diesem Spektrometer ist es möglich, kostengünstig und ohne komplizierten Messaufbau das Emissionsspektrum aufzunehmen und während des optischen Pumpens zu verfolgen.

Um das HR2000 zu betreiben, wird es über ein USB-Kabel an ein Notebook angeschlossen und durch die mitgelieferte Software OOIBase32 gesteuert. Das Laserlicht wird über ein 1,5 m langes Glasfaserkabel mit einem Durchmesser von 0,2 cm in das Spektrometer geleitet. Das Spektrometer wurde durch die Lieferfirma den Erfordernissen dieser Arbeit angepasst (eine ausführliche Funktionsbeschreibung des Spektrometers ist im *spectrometer manual* zu finden).



Abbildung 6.5: Das optische Spektrometer HR2000 mit USB-Anschluss (rechts) und optischem Glasfaserkabel (links).

6.1.3 Das Gasgemisch und der Pumpstand

Zur Herstellung von hyperpolarisiertem Xenongas werden die Gase Helium, Stickstoff und Xenon in die Pumpzelle gefüllt. Die Gase strömen über Hochdruckschläuche zur Apparatur und gelangen über ein Kupferrohr zur sogenannten Mischkammer, einem Metallzylinder mit ca. 20 l Volumen (siehe Abbildung 6.6). Diese kann über zwei Absperrhähne vom übrigen System getrennt werden. In der gesamten Anlage dürfen als Absperrhähne keine Nadelventile verwendet werden, da diese den hohen Drücken von bis zu 0,7 MPa nicht standhalten. Wie sich beim Arbeiten mit der Anlage zeigte, werden Nadelventile mit zunehmender Zeit undicht und es gelangt Luft in die Anlage, was zur Verunreinigung des Rubidiums führt. Die verwendeten Kugelhähne sind mit entsprechender Vorsicht, das heißt sehr langsam, zu öffnen, damit sich der Druck (vor allem in der gläsernen Pumpzelle) nicht schlagartig aufbauen kann. Die Mischkammer ist mit zwei Manometern versehen, mit deren Hilfe das richtige Mischungsverhältnis der drei Gase eingestellt wird. Für niedrige Drücke bis 0,4 MPa wird ein digitales Manometer Leo2 der Firma Keller (Schweiz) verwendet, während hohe Drücke bis 2,5 MPa an dem analogen Manometer (Kobold, Sindelfingen, Deutschland) abgelesen werden. Der Unterdruck wird mit einem analogen Manometer der Firma Alcatel gemessen. Wie schon ausführlich im Theorieteil beschrieben, reagiert das System sehr sensibel auf paramagnetische Verunreinigungen. Daher ist es wichtig, vor dem Befüllen in der gesamten Apparatur ein möglichst hohes Vakuum herzustellen. Mit einer Drehschieber-Vakuumpumpe (VakUUbrand, Wertheim, Deutschland), die als Vorpumpe dient, wird die Apparatur zunächst auf ca. $1 \cdot 10^{-6}$ MPa evakuiert. Danach wird eine Turbomolekularpumpe (Leybold, Deutschland) zugeschaltet, welche das gesamte System auf ca. $1 \cdot 10^{-9}$ MPa evakuiert und somit Ultrahochvakuum erzeugt.

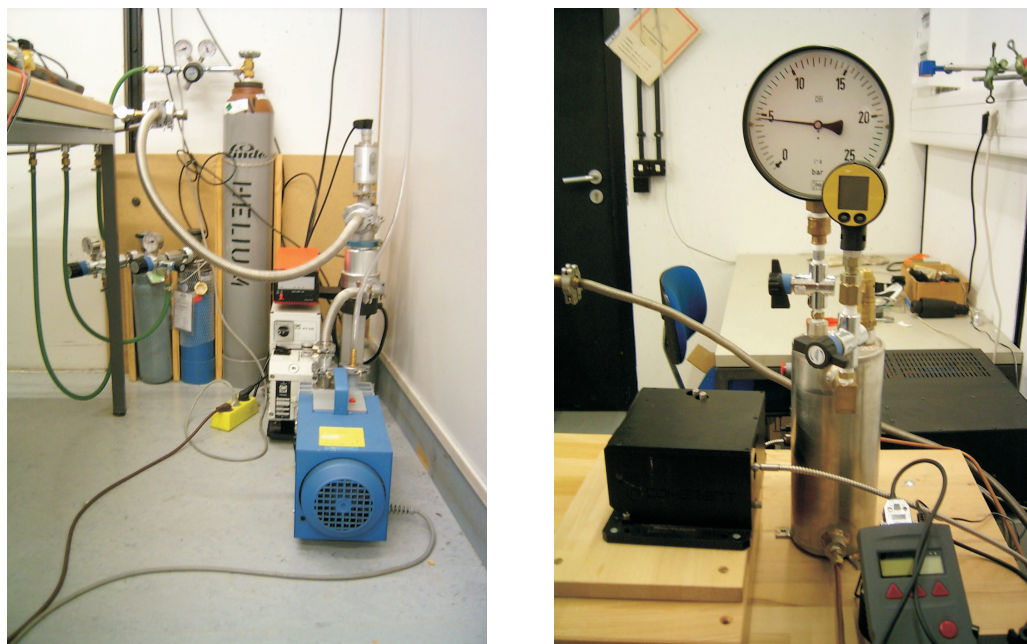


Abbildung 6.6: *Links: Der Pumpstand mit Vorpumpe (blau) und Turbomolekularpumpe. Rechts: Die zylinderförmige Mischkammer mit den aufgeschraubten Manometern und links davon der Polarisator.*

Zusätzlich befindet sich kurz vor dem Eingang zur Pumpzelle ein Metallrohr, das mit einem Heizdraht umwickelt ist, welcher die im Rohr verteilten Magnesiumspäne erhitzt. Diese „chemische Falle“ befreit die verwendeten Gase von Verunreinigungen wie Wasser- oder Sauerstoffresten. Wie sich beim Experimentieren zeigte, würde das Rubidium sofort oxidieren, wenn das Gasgemisch ohne diese Reinigung in die Pumpzelle strömen würde.

6.1.4 Die Pumpzelle

- Die Pumpzelle wurde von der Glasbläserei der Fakultät für Chemie und Pharmazie der Universität Regensburg angefertigt. Sie besteht aus einem zylinderförmigen Borosilikat-Glas mit 10,4 cm Länge, einem Aussendurchmesser von 2,4 cm sowie einer Wandstärke von 0,3 cm und einem Volumen von ca. 32 cm³. Ein- und Ausgang können jeweils mit einem Absperrventil geöffnet bzw. geschlossen werden. Das Einlassventil besteht aus Edelstahl, das Auslassventil aus Messing. Der Messinghahn wurde als Ersatz für einen Nadelventilmessinghahn mit Mikrometerschraube eingebaut, da das ursprüngliche Edelstahlnadelventil die gesamte Polarisation zerstörte. Alle Ventile, Kupferrohre und PVC-Schläuche werden über *Swagelok*-Klemmring-Verschraubungen untereinander verbunden.

Durchgeführte Druckmessungen ergaben, dass die Pumpzelle Drücken bis zu mindestens 1,4 MPa standhält.

Wie numerische Berechnungen, die in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt wurden [27], zeigten, ist die Zylinderform der Pumpzelle einer Kugelform vorzuziehen. Der Durchmesser des Laserstrahls kann zwar am Polarisator bis auf ca. 3 cm aufgeweitet werden. Da er aber die Pumpzelle komplett ausleuchten muss, um eine optimale Rubidiumpolarisation zu erreichen, würde eine Kugel mit 3 cm Durchmesser ein zu geringes Volumen besitzen, um größere Xenonmengen zu erhalten. Im Vergleich zu der hier verwendeten Pumpzelle wäre das Kugelvolumen um über die Hälfte kleiner und entsprechend weniger hyperpolarisiertes Xenon stünde während einer *single-batch*-Messung zur Verfügung. Trotzdem ist es anzustreben, die Oberfläche der Pumpzelle, an der Wandrelaxation auftreten kann, möglichst klein zu halten. Ein Zylinder hat dann eine minimale Oberfläche wenn gilt: $(r/l)=1/2$. Wie unsere Berechnungen aber gezeigt haben, hängt das optimale Verhältnis von Radius zu Länge (r/l) hauptsächlich von der verwendeten Laserleistung ab. Wie in Abbildung 6.7 zu sehen ist, hat die Geometrie der Pumpzelle für Laserleistungen, wie sie in dieser Arbeit verwendet werden kaum einen Einfluss auf die Xenonkernspinpolarisation. Allerdings haben unsere Berechnungen auch gezeigt, dass das hier verwendete r/l -Verhältnis sehr gut für Laserleistungen zwischen 45-120 W geeignet ist, was in Zukunft, wenn die Anlage mit einem zweiten Laser ausgerüstet werden sollte, von Vorteil sein wird. Bei sehr hoher Laserleistung (>120 W) ist dann erwartungsgemäß ein (r/l) -Verhältnis von $1/2$ am günstigsten, siehe oben.

Um die Pumpzelle vor Korrosion durch das aggressive Rubidium zu schützen und um vor allem den Einfluss von Wandrelaxationsprozessen so gering wie möglich zu halten [54], wurden Ausfriereinheit und Pumpzelle mit SurfaSil beschichtet (Herstellung und Verarbeitung der Beschichtung siehe 7.3). Die gemessenen Xenonkernspinpolarisationswerte einer beschichteten Pumpzelle lagen fast doppelt so hoch wie die einer unbeschichteten.

Eine gebrauchte Pumpzelle kann maximal zwei Mal wieder mit frischem Rubidium gefüllt werden, da sie nur sehr schwer von den Überresten des alten Rubidiums zu reinigen ist. Dies ist vor allem dann ein Problem, wenn sich Rubidiumdampf am Eintrittsfenster der Pumpzelle niederschlägt. Durch den Laserstrahl wird das Rubidium bzw. seine Verbindungen auf der Scheibe eingebrannt und kann dann selbst mit Salzsäure nicht mehr entfernt werden.

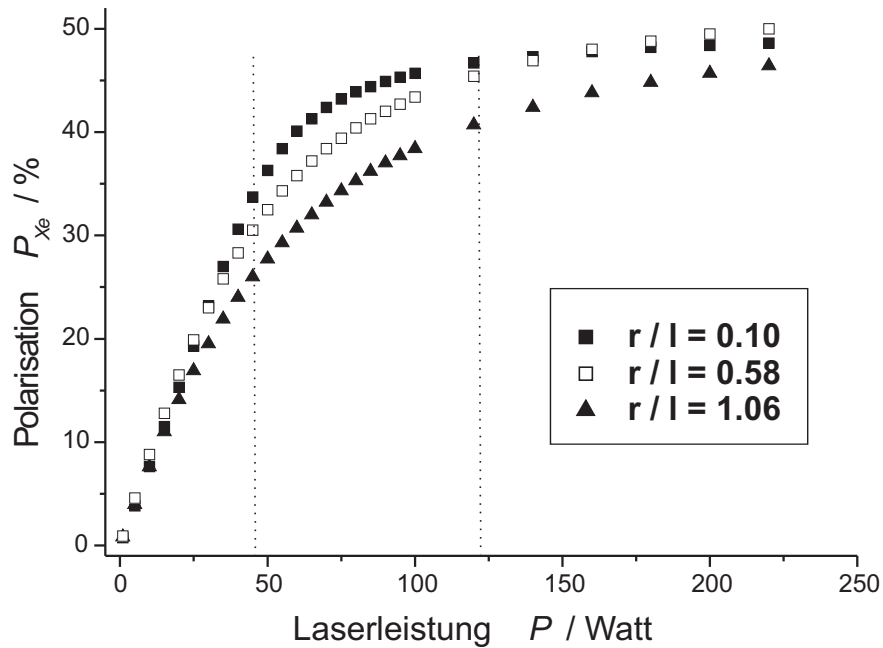


Abbildung 6.7: Abhängigkeit der Xenon-129 Kernspinpolarisation von der Laserleistung für drei verschiedene Radius-zu-Länge Verhältnisse r/l , jeweils mit konstantem Pumpzellenvolumen von 31 cm^3 [27].

- Um die Zeeman-Aufspaltung der elektronischen Energieniveaus zu erreichen, erzeugen zwei selbst gebaute Helmholtzspulen mit einem Durchmesser von 34 cm und 190 Windungen Kupferdraht bei einem Strom von 3,2 A ein Magnetfeld von $B_0 = 3,2 \text{ mT}$. Die Magnetfeldlinien sind parallel zum Laserstrahl gerichtet.
- Der Ofen besteht aus einem quaderförmigen Metallgehäuse, welches innen mit Isoliermaterial ausgekleidet ist. Die Temperatur wird über eine Bruker Temperatureinheit gesteuert, die mit einem Fehler von $\pm 1 \text{ K}$ behaftet ist. Im Ofen befinden sich vorn und hinten je ein Fenster, damit der Laserstrahl in die Pumpzelle einstrahlen und auf der anderen Seite wieder aus dem Ofen austreten kann. Dadurch kann das Glasfaserkabel des optischen Spektrometers außerhalb des Ofens befestigt werden. Während das Austrittsfenster aus handelsüblichen Fensterglas besteht, wird als Eintrittsfenster für den Laserstrahl ein spezielles optisches Glas aus Borosilikat (BOROFLOAT®, Edmund Optics, Karlsruhe) verwendet. Dieses garantiert, dass der Laserstrahl ohne größeren Leistungsverlust in den Ofen eintreten kann.

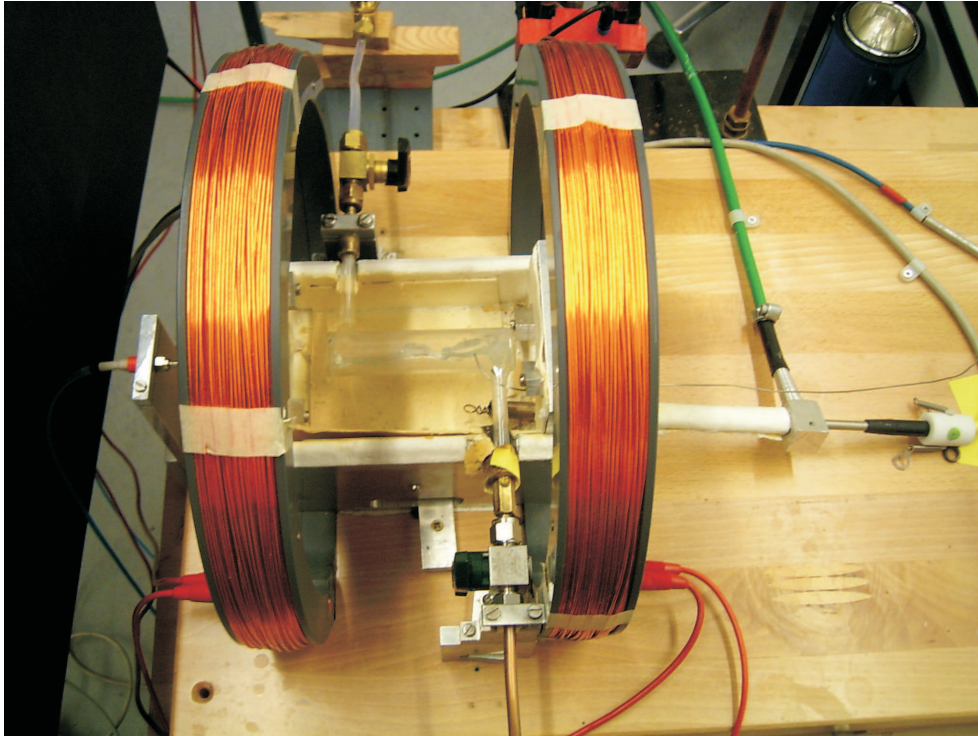


Abbildung 6.8: Die gläserne Pumpzelle im Ofen. Rechts und links sind die Helmholtzspulen zu sehen.

6.1.5 Die Ausfriereinheit für das hyperpolarisierte Xenon

Um das Xenongas von den anderen Gasen im Gasgemisch zu trennen, wird eine Kühlfalle verwendet, die als U-förmiges Glasrohr mit einem Innendurchmesser von 0,5 cm und einer Gesamtlänge von 25 cm ausgebildet ist. Dieses Rohr ist ebenso wie die Pumpzelle mit SurfaSil beschichtet. Es besitzt an beiden Enden einen Glasflansch, der durch Schraubhülsen mit der Anlage verbunden wird. Die Kühlfalle ist von einem Kryogeßäß mit flüssigem Stickstoff umgeben und befindet sich in einem homogenen Magnetfeld von ca. 0,04 T, welches ein Hufeisenmagnet erzeugt. Die tiefe Temperatur und das Magnetfeld gewährleisten, dass die T_1 -Zeit, also die Spin-Gitter-Relaxationszeit des gefrorenen Xenons, bei ca. 1 h liegt [55] und das Xenon somit beim Ausfrieren und dem Transport zum Spektrometer keinen größeren Polarisationsverlust erleidet. Zwischen der Kühlfalle und der Hochdruckmessapparatur sind zwei weitere Helmholtzspulen eingebaut. Sie haben einen Durchmesser von 12 cm und je 6 Windungen und erzeugen bei 10 A ein homogenes Magnetfeld von 0,6 mT. Dieses Magnetfeld dient dem Erhalt der Kernspinpolarisation während des Umfrierens des hyperpolarisierten Xenongas von der Kühlfalle in die Messapparatur (6.2). Wie Kontrollmessungen gezeigt haben, können nur ca. 60 % des gesamten Xenonga-

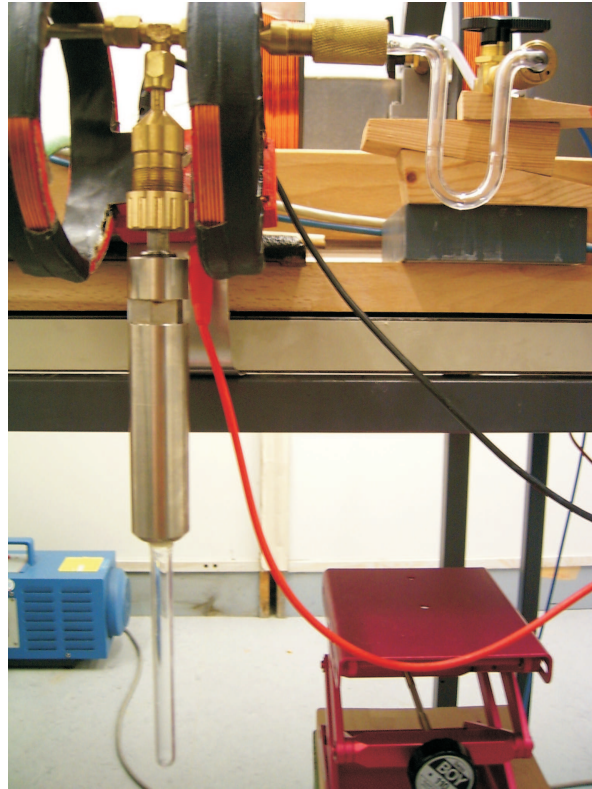


Abbildung 6.9: Die Messapparatur zum Transport des hyperpolarisierten Xenons (links) und die Kühlfalle zum Ausfrieren des hyperpolarisierten Xenons (rechts).

ses ausgefroren werden. Zur Messung der tatsächlichen Xenongasmenge im Probenrohr der Messapparatur wurde das ausgefrorene Gas in ein vordefiniertes Volumen ($V = 262\text{cm}^3$) zurück gefüllt und der sich einstellende Gleichgewichtsdruck mittels eines sehr genauen Manometers (Ceravac CTR90, Firma Leybold, Köln, Deutschland) gemessen. Somit konnte die ausgefrorene Menge an hyperpolarisiertem Xenon bestimmt werden. Diese Technik wurde auch benutzt, um die Kernspinpolarisation des hyperpolarisierten Xenons zu bestimmen (Details zur Bestimmung der Polarisation sind in 8.2 zu finden). Die Tatsache, dass nicht die gesamte Menge an Xenon, welche in der Pumpzelle polarisiert wurde ausgefroren werden konnte, erwies sich besonders bei Messungen mit geringen Xenonpartialdrücken als Problem (siehe 8.3.4). Vor Verwendung des gläsernen U-Rohr als Kühlfalle wurde versucht, das Xenon direkt aus der Pumpzelle in die Messapparatur umzufrieren. Dies erwies sich aber als nicht zweckmäßig, da man auf diese Weise nur ca. 20 % der gesamten Xenonmenge als Ausbeute erhielt. Außerdem zeigte sich, dass die Hochdruckschläuche, ebenso wie die Kupferrohre, zu Relaxationsprozessen führen. Deshalb wurden sie durch PVC-Schläuche ersetzt.

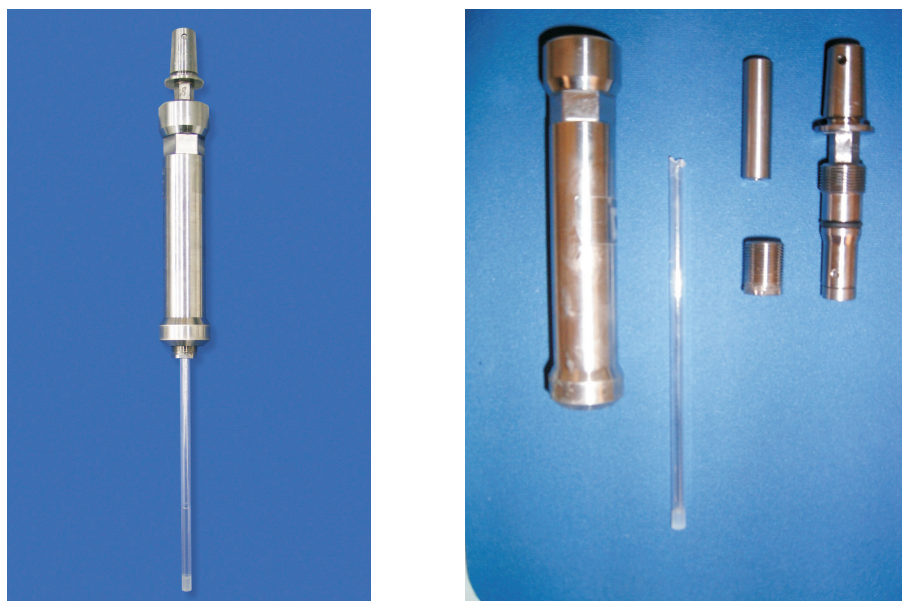


Abbildung 6.10: *Das Hochdruckrohr: Zusammengebaut (links) und in seine Einzelteile zerlegt (rechts).*

6.2 Die Hochdruckmessapparaturen

Die in Abbildung 6.9 dargestellte Messapparatur dient dem Transport des gefrorenen, hyperpolarisierten Xenons und als Probenröhrchen für die Messungen am NMR-Spektrometer. Wie bereits oben erwähnt, wird sie ebenso wie die in 6.1.5 beschriebene Kühlfalle zur Erhaltung der Xenonkernspinpolarisation während des Transports in einem Stickstoffdewar mit Hufeisenmagnet transportiert. Diese Messapparatur ist eine verbesserte Version der von unserer Arbeitsgruppe bereits früher konzipierten Apparatur für NMR-Messungen bei hohen Drücken, deren detaillierter Aufbau in [49] beschrieben ist. Hauptunterschied zu der in dieser Arbeit für die reinen Gasmessungen verwendeten Apparatur ist das Glasrohr. Da der Druck des ausgefrorenen hyperpolarisierten Xenons weniger als 1 MPa beträgt, konnte ein Glasrohr aus Borosilikat mit 14 cm Länge und 1 cm Außendurchmesser in den Titanzylinder eingeklebt werden. Das Volumen der Apparatur beträgt $10,1 \text{ cm}^3$. Außerdem wurde der Dichtungskolben aufgebohrt, um zu erreichen, dass das hyperpolarisierte Gas möglichst schnell umgefüllt werden kann.

Da das Volumen dieses Probenröhrchens für Flüssigkeitsmessungen zu groß ist und ein höherer Xenondruck für eine besserer Löslichkeit des hyperpolarisierten Xenons von Vorteil ist, wurde für diese Messungen ein Hochdruckrohr verwendet, welches

wieder nach dem in [49] beschriebenen Prinzip aufgebaut ist. Es besitzt im Gegensatz zum oben erwähnten Messrohr ein Einkristall-Saphirrohr (Saphikon, USA) mit 0,5 cm Außendurchmesser und mit einem Gesamtvolumen von $0,9 \text{ cm}^3$, wobei das Saphirröhrchen nicht mehr fest mit dem Titangehäuse verbunden ist, sondern lediglich in eine Titanhülse geklebt und dann ins Gehäuse eingeschraubt wird und somit leicht von diesem getrennt werden kann (siehe Abbildung 6.10). Allerdings sind die Saphirröhrchen weniger gut geeignet, wenn die Proben häufiger eingefroren und aufgetaut werden müssen, besonders wenn das Auftauen mit heißem Wasser geschehen muss, wie es beim schnellen Auftauen des hyperpolarisierten Xenons am NMR-Spektrometer der Fall ist. Durch die schnellen Temperaturänderungen entstehen im Saphir Spannungen, die zu Rissen und somit zum Bersten des Rohrs führen können. Das Glasrohr hingegen ist in dieser Beziehung weniger empfindlich.

Kapitel 7

Verwendete Materialien

7.1 Rubidium

Das in dieser Arbeit verwendete Rubidium (Firma Sigma Aldrich, Saint Louis, USA) hat einen Reinheitsgrad von 99,6 %. Das Atomgewicht von Rubidium beträgt 85,4678, es hat zwei natürliche Isotope, Rb-85 und Rb-87 und sein Schmelzpunkt liegt bei 312 K. In frischem Zustand ist es bei Raumtemperatur ein silberfarbener Feststoff, der jedoch mit zunehmendem Sauerstoffgehalt seine Beschaffenheit ändert, wie man aus Abbildung 8.5 entnehmen kann. Dabei ändert es seine Farbe von Silber über Gold bis hin zu Weiß im völlig oxidiertem Zustand. Daher ist das Rubidium in der Pumpzelle immer dann, wenn es im flüssigen Zustand goldfarben wurde, durch frisches ersetzt worden.

Das Rubidium, welches nicht in die Pumpzelle gefüllt wurde, wurde unter Argonatmosphäre in einer Glove-Box aufbewahrt, da es ansonsten heftig mit Sauerstoff reagiert und zur Selbstentzündung neigt. Aus diesem Grund erfolgte auch die Befüllung der Pumpzelle mit frischem Rubidium in der Glove-Box, ebenfalls unter Argonatmosphäre.

7.2 Gase

Alle verwendeten Gase stammen von der Firma Linde Gas (Höllriegelskreuth, Deutschland).

- Xenon, Reinheit 4.0
- Stickstoff, Reinheit 5.3

- Helium, Reinheit 5.0

7.3 Silikonbeschichtung

Die Lösung zur Beschichtung der Pumpzelle und der Kühlfalle wurde aus n-Hexan und dem Siloxan SurfaSil (Firma Pierce Chemical Company, Rockford, USA) hergestellt. Dazu wurde dem n-Hexan 10 % SurfaSil beigemischt und diese Lösung ca. 20 Minuten in den beiden Gefäßen stehen gelassen. Dann wurden die Objekte mit n-Hexan und mit Methanol gespült, um Wechselwirkungen mit Wasser zu verhindern. Nach einer Trockenzeit von 1 Tag konnten die Gläser wieder verwendet werden.

7.4 Lösungsmittel

Als Lösungsmittel kamen Toluol, D₂O, H₂O, DMSO sowie deuteriertes DMSO (alle bis auf H₂O Firma Merck, Darmstadt, Deutschland) zur Verwendung.

7.5 Bizellen

Zwei Phospholipide mit unterschiedlichen Kettenlängen bilden eine Lipid-Doppelschicht. Diese sogenannten Bizellen sind doppelagige, diskusförmige Aggregate, die durch langkettige Bestandteile gebildet werden und deren Enden durch kurzkettige Komponenten stabilisiert werden. Die in dieser Arbeit verwendeten Bizellen entstehen in wässriger Lösung aus den zwei Phospholipiden Dihexanoyl Phosphatidylcholin (DHPC) und Dimyristoyl Phosphatidylcholin (DMPC) [56, 57]. Abbildung 9.5 (Kapitel 9.2.2) ist eine schematische Zeichnung einer Bizelle, die aus DHPC und DMPC, besteht.

Die Bizellen-Lösung wurde der in [56] beschriebenen Prozedur folgend hergestellt. Dabei lag das molare Verhältnis von DMPC/DHPC bei 3:1 und die Konzentration (Gewicht/Volumen) bei 10%. Als Lösung wurde ein Puffer bestehend aus 10 mM Phosphatpuffer, 0,15 mM Natriumazid sowie 10 % D₂O mit einem pH-Wert von 6,6 verwandt. Zusätzlich wurde etwas Hexadecyl (cetyl)trimethyl ammonium bromid (CTAB) zur Stabilisierung der Bizellen beigemischt.

7.6 Aminosäure L-Tyrosin

Das L-Tyrosin, Sigma Aldrich (Saint Louis, USA), wurde in D₂O gelöst, zweimal lyophilisiert und anschließend wieder in D₂O aufgenommen, so dass eine Probenkonzentration von 10 mM erreicht wurde. Da das Tyrosin in D₂O nur schlecht löslich ist, musste der pH-Wert mit Natronlauge auf 11,5 eingestellt werden.

7.7 Protein HPr(I14A)

Für die SPINOE-Experimente wurde die I14A-Austauschmutante des *Histidine--containing Phosphocarrier* Proteins (HPr) verwendet. Diese Mutante des ca. 9 kDa schweren Proteins entsteht durch Austausch der Aminosäure Isoleucin-14 mit der Aminosäure Alanin. Dadurch wird eine künstliche Kavität mit ca. 4 Ångström Durchmesser geschaffen. In Abbildung 10.9 ist die Struktur des HPr(I14A) dargestellt.

Zur Herstellung einer Probe wird das HPr im nachfolgend aufgeführten Puffer aufgenommen, zweimal lyophilisiert und danach jeweils in reinem D₂O gelöst, so dass eine Probe mit einer Konzentration von 1 mM entsteht.

HPr Puffer

Kaliumphosphatpuffer	20 mM
Kaliumchlorid	100 mM
EDTA	0,1 mM
Natriumazid	1 mM
Pepstatin	1 μ M
Leupeptin	1 μ M
BPTI	0,1 μ M
DSS	0,1 mM
Lösungsmittel	93% H ₂ und 7% D ₂ O
pH	7,14 (mit KOH eingestellt)

Teil IV

Ergebnisse und Diskussion

Kapitel 8

Optisches Spinaustausch-Pumpen im *single-batch*-Betrieb

8.1 Protokoll einer *single-batch*-Messung

Im Nachfolgenden wird ein typisches *single-batch*-Experiment zur Herstellung von hyperpolarisiertem Xenon-129 beschrieben.

Zu Beginn jeder neuen Messreihe wird die Heizung eingeschaltet und die Pumpzelle für ca. 2 Stunden bei 418 K geheizt. Danach wird die gesamte Apparatur (bis auf die Pumpzelle) auf ca. $1 \cdot 10^{-9}$ MPa evakuiert. Anschließend werden die gewünschten Mengen an Xenon (ca. $4 \cdot 10^{-3}$ MPa), Stickstoff (ca. $55 \cdot 10^{-3}$ MPa) und Helium (ca. 0,6 MPa) in die Mischkammer gefüllt und dann das Ventil zur „chemischen Falle“ (Metallrohr gefüllt mit Magnesiumspänen), welche zuvor auf 373 K geheizt wird, geöffnet. Die Pumpzelle wird pro Pumpzyklus etwa 4 Minuten lang mit dem Laser ($I_{\text{Laser}} = 33,2 \text{ A}$, Diodentemperatur 285,5 K, was 23 W entspricht) bestrahlt. Währenddessen wird zunächst das Ventil der Hochdruckmessapparatur geöffnet und dann das Ausgangsventil der Pumpzelle, dies jedoch sehr langsam, da sich sonst ein Druckstoß aus der mit 0,6 MPa gefüllten Pumpzelle schlagartig auf die ganze Anlage auswirken würde. Das Gas strömt dann in die Ausfriereinheit. Da sich das gläserne U-Rohr in flüssigem Stickstoff befindet, friert das Xenon aus, Helium und Stickstoff jedoch nicht. Die letzteren Gase können deshalb abgepumpt werden. Wenn ein Vakuum von ca. $1 \cdot 10^{-6}$ MPa erreicht ist, wird das Ventil am Vakuumpumpstand geschlossen, als nächstes das Ventil an der Pumpzelle und schließlich das Ventil vor dem U-Rohr. Dann wird der Laser ausgeschaltet und der Strom für die zwei kleinen Magnetspulen eingeschaltet. Für manche Anwendungen ist es nötig, größere Mengen von hyperpolarisiertem Xenon zu erzeugen, weshalb dann mehrere *single-batch*-Experimente nach-

einander ausgeführt werden. Dazu bleiben die Ventile vor dem Pumpstand und vor dem Glasrohr geöffnet. Es wird sofort frisches Gas in die Pumpzelle nachgefüllt und die Hyperpolarisation von Xenon beginnt von Neuem. Wenn alle Ventile der Anlage geschlossen sind, wird das Xenoneis mit heißem Wasser so schnell wie möglich aufgetaut und in das Hochdruckrohr, welches sich ebenfalls in flüssigem Stickstoff befindet, umgefroren. Zum Schluss wird dieses Rohr durch das Ventil wieder geschlossen, von der Anlage abgetrennt und zum Messen ans Spektrometer getragen. Ein Pump- und Ausfrierzyklus dauert ca. 6 Minuten, wobei man eine durchschnittliche Xenonkernspinpolarisation von 25% erreicht.

Am Spektrometer wird das gefrorene Xenon im Streufeld des Magneten aufgetaut. Dafür wird es für ca. 8 s in heißes Wasser gehalten und danach sofort in den Magneten eingeführt.

8.2 Bestimmung der Kernspinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129

Die Kernspinpolarisation des hyperpolarisierten Xenon-129 kann man durch den Intensitätsvergleich der NMR-Signale der hyperpolarisierten Probe und einer Eichprobe im thermodynamischen Gleichgewicht bestimmen. Die Gleichgewichtskernspinpolarisation P_{eq} von Xenon-129 in einem Magnetfeld B_0 von 7 T liegt bei Raumtemperatur bei $7 \cdot 10^{-4} \%$. Dieser Wert wurde als Eichwert verwendet. Die Kernspinpolarisation P_{hyp} von hyperpolarisiertem Xenon-129 kann über folgende Gleichung berechnet werden:

$$P_{hyp} = P_{eq} \frac{g_{eq} p_{eq} I_{hyp}}{g_{hyp} p_{hyp} I_{eq}}. \quad (8.1)$$

Dabei sind g_{eq} und g_{hyp} die Empfängerverstärkung am NMR-Spektrometer der Probe im Gleichgewicht und der hyperpolarisierten Probe, p_{eq} und p_{hyp} die jeweiligen Gasdrücke im Probenrohr und I_{eq} und I_{hyp} die Integrale der NMR-Signale. Die Integrale wurden von XWIN-NMR mit der Integrate-Funktion berechnet, die Verstärkungsfaktoren entsprechen den *receiver gain*-Werten während der Signalaufnahme am Spektrometer. Vor jeder Messung wurde eine Eichprobe mit 1,5 MPa Xenon hergestellt. Dabei wurde die benötigte Menge an Xenongas von einem kalibrierten Volumen ($V_0 = 262 \text{ cm}^3$) in die evakuierte Hochdruckmessapparatur ($V_1 = 10,1 \text{ cm}^3$) überfroren. Dasselbe Verfahren wurde verwendet, um die genaue Menge an ausgefrorenem, hyperpolarisiertem Xenon zu ermitteln, nur in umgekehrter Reihenfolge. In Abbildung 8.2 sind die NMR-Spektren einer Eichprobe mit 1,5 MPa Xenon und einer Probe mit

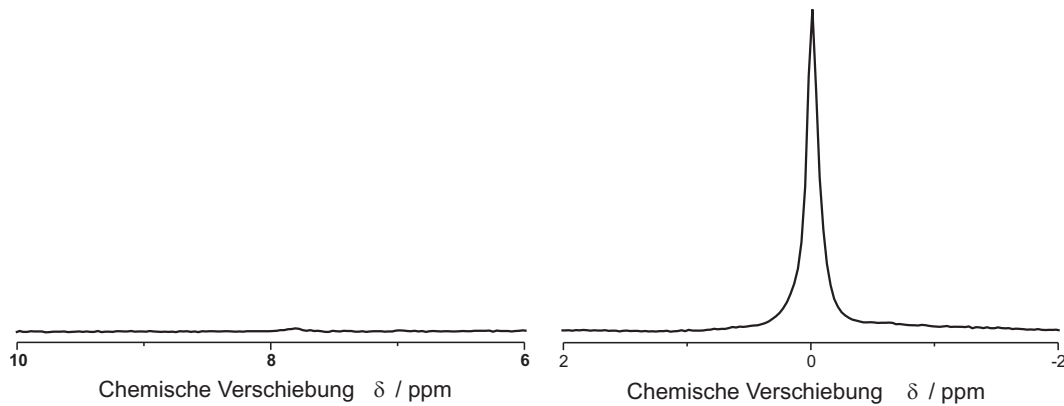


Abbildung 8.2: *Links: NMR-Spektrum von 1,5 MPa Xenon-129 im thermischen Gleichgewicht als Eichprobe. Rechts: Xenon-Spektrum von 0,008 MPa hyperpolarisiertem Xenon-129 mit einer Kernspinpolarisation $P_{Xe}=27\%$.*

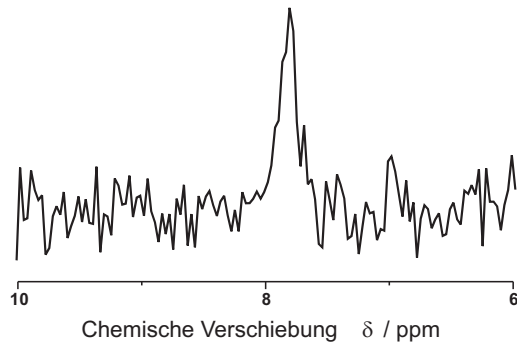


Abbildung 8.1: *Gleiches Xenon-NMR-Spektrum wie oben, nur mit vergrößerter Skalierung: 1,5 MPa Xenon im thermischen Gleichgewicht als Eichprobe.*

hyperpolarisiertem Xenon-129, die einen Xenondruck von 0,008 MPa hat, zu sehen. Die Kernspinpolarisation des hyperpolarisierten Xenons lag in diesem Fall bei ca. 27 %, was einer Erhöhung auf das 39000-fache der Gleichgewichtskernspinpolarisation entspricht. Dabei war das NMR-Signal des hyperpolarisierten Xenon-129 im Vergleich zum Gleichgewichtssignal ca. 200 Mal größer. Die unterschiedlichen chemischen Verschiebungen der Signale ergeben sich aus Gleichung 5.1 durch die unterschiedlichen Xenondrücke in den Pro-

benrohren. In Abbildung 8.1 ist das gleiche Spektrum wie in Abbildung 8.2 zu sehen. Hierbei wurde nur die Skalierung vergrößert, um das Eichsignal besser erkennen zu können.

Im Zusammenhang mit der Bestimmung der Xenonkernspinpolarisation ist darauf hinzuweisen, dass die in der Pumpzelle erzeugte Kernspinpolarisation höher liegt, als die bei diesem Verfahren gemessene Kernspinpolarisation im Messröhrchen. Die auftretenden Polarisationsverluste werden später noch genauer diskutiert.

8.3 Optimierung des *single-batch*-Verfahrens

Um eine möglichst hohe Xenonkernspinpolarisation zu erhalten, mussten die experimentellen Bedingungen optimiert werden. Vor der Diskussion der Optimierung der einzelnen Gaskonzentrationen werden einige apparative Verbesserungen, die sich im Laufe der Arbeiten ergeben haben, besprochen.

- Wie vergleichende Messungen gezeigt haben, ist es wichtig, das eingefrorene hyperpolarisierte Xenon sehr schnell wieder aufzutauen. Dies betrifft den Vorgang am Spektrometer ebenso, wie das Auftauen des Xenoneises in der Kühlfalle. Um dies zu erreichen, wird das gefrorene Xenon jeweils in heißes Wasser gehalten. Das Auftauen mit einem Föhn würde zu lange dauern und zur Relaxation des hyperpolarisierten Xenons führen.

Man muss beim Auftauen allerdings insofern vorsichtig vorgehen, als das Hochdruckprobenrohr nicht zu weit in das heiße Wasser eintauchen darf, da es sonst zu Spannungen an der Klebestelle zwischen dem Glas und der Metallhülse kommen kann. Diese Spannungen können bei den Saphirröhrchen zu deren Zerstörung führen. Ein weiteres Problem entsteht beim Auftauen von Flüssigkeiten, wenn das hyperpolarisierte Xenon in Flüssigkeitsproben gelöst werden soll. Viele Flüssigkeiten brauchen bis zu 30 s um wieder aufzutauen. Dies ist zu lange, denn bis dahin ist die Kernspinpolarisation des Xenons bereits weitgehend relaxiert. Dieses Problem lässt sich nur damit beheben, dass man die Anlage auf Durchfluss-Betrieb umstellt (siehe 9.2).

- Es müssen alle ferro- oder paramagnetischen Bauteile aus dem Teil der Anlage entfernt werden, durch den hyperpolarisiertes Xenon fließt. Dazu wurde der zu Beginn verwendete Hochdruckschlauch vor der Kühlfalle zunächst durch ein Kupferrohr ersetzt, dieses schließlich wiederum durch einen PVC-Schlauch. Diese Maßnahmen führten jeweils zu einer Verbesserung der Xenonkernspinpolarisation.
- Alle Rohrleitungen und Verbindungen hinter der Pumpzelle müssen so kurz wie möglich gehalten werden. Dies konnte vor allem an der Kühlfalle beobachtet werden. Eine Verlängerung der Kühlfalle um 4 cm führte zu einer messbaren Verringerung der Polarisation.
- Die Pumpzelle muss rechtzeitig wieder mit frischem Rubidium gefüllt werden. Das Rubidium ist nicht mehr verwendbar, wenn es mit einer weiß-braunen Oxidschicht überzogen ist und deshalb nur noch eine geringe oder gar keine Laserab-

sorption statt finden kann. Wenn das Rubidium nicht mehr silberfarben ist und keine Laserabsorption mehr messbar ist, besteht allerdings noch die Möglichkeit das Rubidium wieder zu reinigen. Dies ist jedoch nur dann möglich, wenn sich eine dünne Oxidschicht auf der Rubidiumoberfläche befindet. Dazu wird die Pumpzelle für ca. 2 Stunden auf 440 K erhitzt. Dann wird das Gas aus der Pumpzelle abgepumpt und diese wird wieder gefüllt. Dies wiederholt man 3-4 mal. Sollte sich dann noch keine Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit des Rubidiums eingestellt haben, besteht noch die Möglichkeit, für mehrere Minuten mit dem Laser auf die Pumpzelle einzustrahlen und somit die Temperatur in der Pumpzelle weiter zu erhöhen. Wenn danach allerdings noch immer keine Absorption einsetzt, muss frisches Rubidium in die Pumpzelle gefüllt werden.

- Besonders wichtig ist die Justierung der Pumpzelle im Laserstrahlengang. Dazu wird sie zunächst in den Ofen gelegt und so ausgerichtet, dass sie mittig zwischen den beiden Ofenfenstern liegt, die Längsseiten waagrecht zu den geöffneten Seitenrändern des Ofens, sowie senkrecht zu der Ofenstirnseite ausgerichtet sind. Nach der Grobjustierung kann die Pumpzelle mittels einer Infrarotkarte genau in den Laserstrahl einjustiert werden. Auf dieser Karte wird der Laserstrahl als leuchtender Punkt abgebildet. Da es sich um einen Infrarot-Laser handelt, ist der Strahlengang normalerweise nicht zu sehen. Mit dieser Karte fährt man jeweils die Ränder der Pumpzelle ab und erhält somit die optimale Lage der Pumpzelle im Laserstrahl. Schon eine Abweichung der Pumpzellenlängsachse um wenige Grad gegenüber der Waagerechten verhindert die Rubidiumpolarisation weitgehend.

8.3.1 Optimierung der Vorheizdauer

Damit sich der Rubidiumdampf und die anderen Gase in der Pumpzelle während des optischen Pumpens im thermodynamischen Gleichgewicht befinden, ist es wichtig die Pumpzelle ausreichend lang vor dem optischen Pumpen zu heizen. In Abbildung 8.3 wurde die Xenonkernspinpolarisation in Abhängigkeit von der Vorheizdauer gemessen. Wie man sieht, braucht das System mindestens 100 Minuten, um die maximale Kernspinpolarisation zu erreichen.

Folgende experimentelle Parameter wurden für diese Experimente verwendet:

Xenondruck $p_{Xe} = (3,7 \pm 0,4) \cdot 10^{-3} \text{ MPa}$, *Stickstoffdruck* $p_{N_2} = (44,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-3} \text{ MPa}$, *Gesamtdruck* $p_g = (0,58 \pm 0,05) \text{ MPa}$, *Ofentemperatur* $T = 418 \pm 2 \text{ K}$.

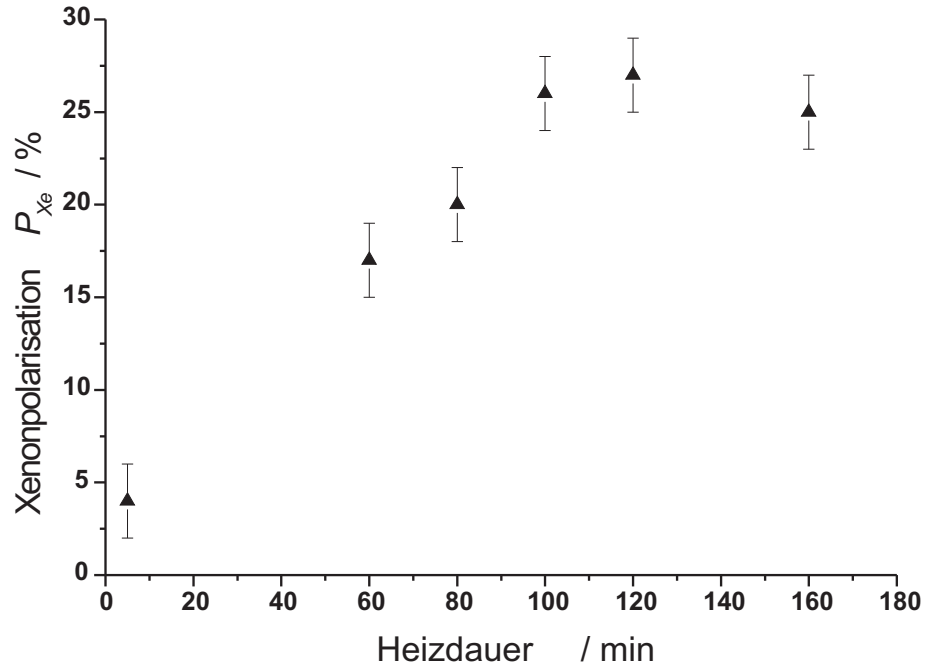


Abbildung 8.3: Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} in Abhängigkeit von der Vorheizdauer der Pumpzelle.

8.3.2 Optimierung der Pumpdauer

Als weiterer Parameter wurde die Pumpdauer, d.h. die Zeit, für die der Laser eingeschaltet ist, optimiert. Wie in Abbildung 8.4 zu sehen ist, wird bereits nach 2 Minuten das Maximum der Xenonkernspinpolarisation erreicht. Nach 6 Minuten optischen Pumpens sinkt die Kernspinpolarisation wieder ab. Anscheinend erhitzt der Laser die Pumpzelle zu stark und es beginnt derselbe Effekt zu wirken, wie er bei einer zu hohen Temperatur der Pumpzelle festzustellen ist. Die Temperatur wird so hoch, und damit die Rubidiumdichte, dass das Laserlicht bereits vor dem Ende der Pumpzelle vollständig vom Rubidiumdampf absorbiert wird. Somit gibt es einen Bereich in der Pumpzelle, der nicht mehr vom Laser beleuchtet wird. Also kann dort keine Rubidiumpolarisation mehr statt finden. Dass die Kernspinpolarisation des Xenons ein niedrigeres, aber konstantes Plateau erreicht, bedeutet, dass der Laser die Temperatur der Pumpzelle auf einen ganz bestimmten Gleichgewichtswert einstellt. Deshalb wurde als Ergebnis eine Pumpdauer von 3 bis 4 Minuten für alle nachfolgenden Experimente festgelegt.

Folgende experimentelle Parameter wurden bei dieser Messung eingestellt:

Pumpzellentemperatur $T = 418 \pm 2 \text{ K}$, Xenondruck $p_{Xe} = (4,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-3} \text{ MPa}$, Stickstoffdruck $p_{N_2} = (9,0 \pm 0,4) \cdot 10^{-3} \text{ MPa}$, Gesamtdruck $p_g = (0,50 \pm 0,05) \text{ MPa}$.

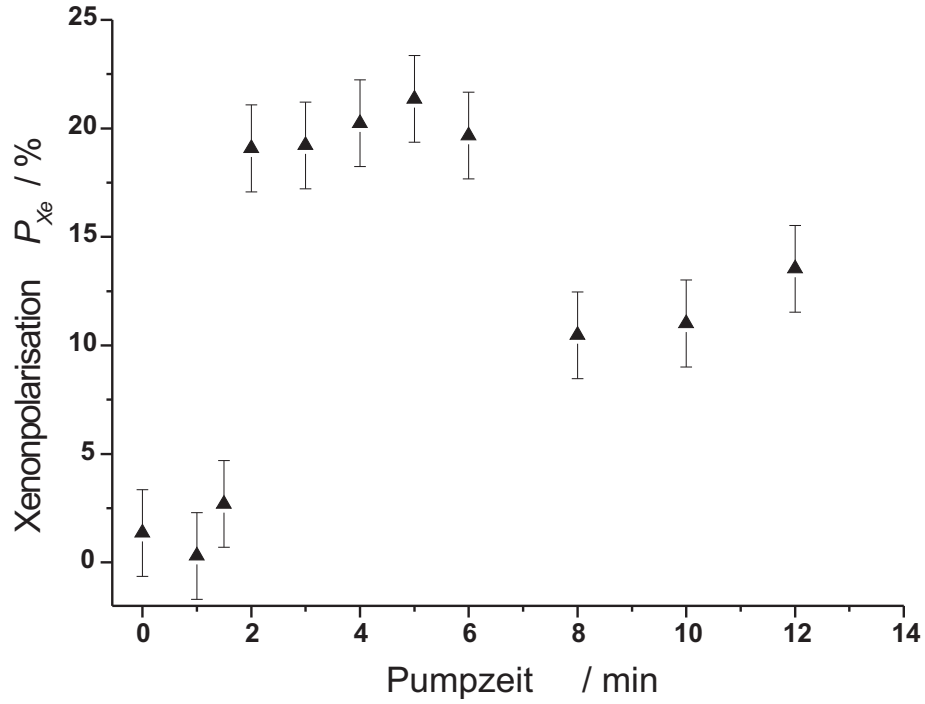


Abbildung 8.4: Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} in Abhängigkeit von der Pumpdauer.

8.3.3 Optimierung der Pumpzellentemperatur

Ein vergleichsweise schwierig zu bestimmender und daher auch einzustellender Parameter ist die Pumpzellentemperatur und damit die Rubidiumteilchendichte. Die Xenonkernspinpolarisation reagiert sehr sensibel auf Änderungen der Rubidiumteilchendichte, da diese direkt auf die Ratengleichungen für das optische Pumpen und die Xenonkernspinpolarisation wirkt. Sie beeinflusst (wie bereits diskutiert) die Spinzerstörungsrate Γ_{SD} (siehe Gleichung 2.2) der Rubidiumpolarisation sowie die Spinaustauschrate γ_{se} (Gleichung 2.2) zwischen Rubidium und Xenon. Die Rubidiumteilchendichte $[Rb]$ kann z.B. mit der sogenannten *Smithells-Formel* [58] berechnet werden:

$$[Rb] = 10^{9,318-4040K/T} \cdot \frac{1}{k_B T}. \quad (8.2)$$

Allerdings ändert sich die Dampfdruck-Kurve des Rubidiums sehr stark, wenn das Rubidium durch Oxidation verunreinigt ist. Da sich dadurch das Phasendiagramm verändert (siehe Abbildung 8.5), ändert sich auch die Rubidiumdichte. Die Temperatur im Ofen der Apparatur wird, wie schon erwähnt, über eine *Bruker* Temperatureinheit eingestellt. Dabei werden pro Stunde ca. 15 m^3 geheizte Luft in den Ofen geblasen. Wie Messungen gezeigt haben, herrscht im Ofen eine sehr inhomogene Temperaturverteilung, sie variiert um bis zu 10 K an verschiedenen Orten im Ofen. Um die

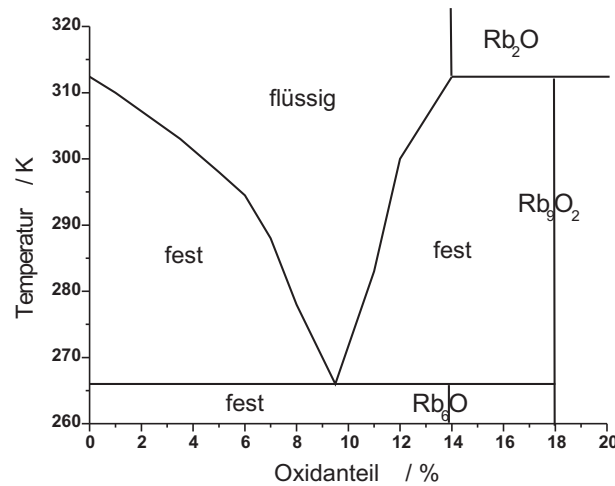


Abbildung 8.5: *Phasendiagramm Rb/Rb₂O nach [59]. Der Schmelzpunkt sinkt bei einem gewissen Grad an Suboxidierung bis auf 266 K.*

Temperatur in der Pumpzelle annähernd bestimmen zu können, wurden Messungen an drei verschiedenen Punkten in der Pumpzelle durchgeführt: Zweimal innerhalb der Pumpzelle, jeweils 0,5 cm vom Eintritts- bzw. Austrittsfenster entfernt (diese Messungen konnten natürlich nur ohne Rubidium und ohne Gas in der Pumpzelle vorgenommen werden), und zusätzlich einmal außen an der Pumpzelle, im vorderen Drittel. Für diese Messung wurde der Messfühler ca. 0,2 cm von der Glaswand entfernt in Position gebracht. Er wurde mit einem Isolierschaumgummi so umgeben, dass sich um die Spitze des Messfühlers ein kleiner Hohlraum bildet, in dem sich dieselbe Temperatur wie im Zelleninneren einstellen kann. Unter der Annahme, dass sie nach spätestens 2 Stunden erreicht ist, konnte somit an drei verschiedenen Punkten in und außerhalb der Pumpzelle die jeweilige Zellentemperatur gemessen werden. Auf grund der so erhaltenen Messergebnisse kann man davon ausgehen, dass die im äußeren Punkt gemessene Temperatur die durchschnittlichen Verhältnisse im Inneren der Pumpzelle wiedergibt. Der Fehler der Temperaturmessung kann so zu ± 2 K abgeschätzt werden.

In Abbildung 8.6 ist die gemessene Xenonkernspinpolarisation in Abhängigkeit von der Pumpzellentemperatur gezeigt. Zusätzlich sind die numerischen berechneten Werte angegeben. Die in dieser Arbeit angegebenen Berechnungen wurden im Rahmen einer Doktorarbeit in unserer Arbeitsgruppe durchgeführt. Details dazu können bei Fink et al. [27] nachgelesen werden. Für diese Berechnungen der nachfolgenden Temperaturreihe wurden folgende Werte zu grunde gelegt: *Xenondruck* $p_{Xe} = 0,004$ MPa, *Gesamtdruck* $p_g = 0,6$ MPa. Zum Vergleich zwischen den experimentellen Ergebnissen und den numerischen Berechnungen ist zunächst allgemein anzumerken, dass (wie

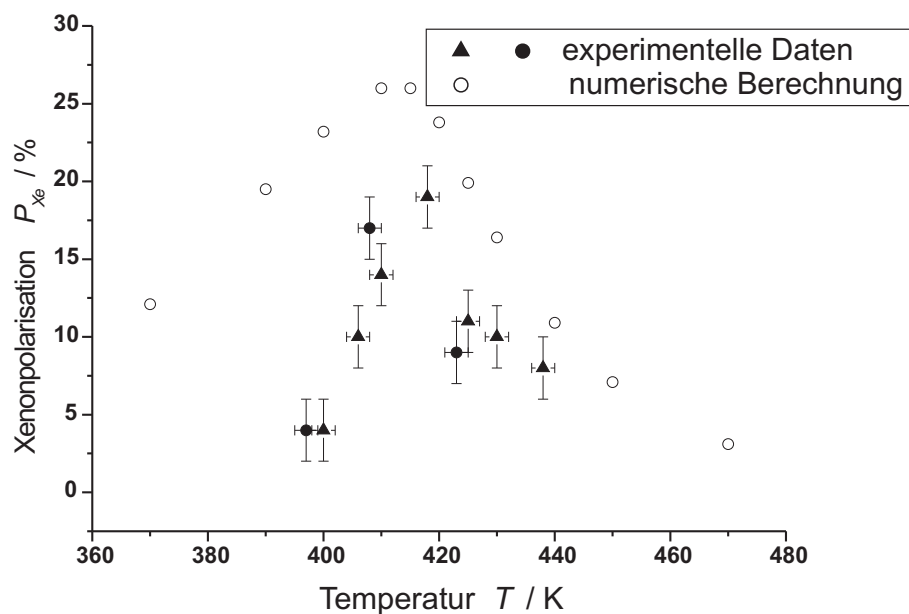


Abbildung 8.6: Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} in Abhängigkeit von der Temperatur in der Pumpzelle. Es sind die experimentelle Daten von zwei Messreihen, sowie die berechneten Daten abgebildet.

weiter oben schon erwähnt) die experimentellen Ergebnisse der Xenonkernspinpolarisationsmessungen aus den Messungen im Probenröhrchen stammen und nicht wie bei den Berechnungen aus der Pumpzelle. Der Transfer des hyperpolarisierten Gases ins Spektrometer führt zu einer Verringerung der Kernspinpolarisation: das Xenon relaxiert auf dem Weg zur Kühlfalle, in der Kühlfalle, beim Umfrieren in die Messapparatur und während des Transports zum Spektrometer. Daher sind die experimentellen Werte der Xenonkernspinpolarisation grundsätzlich als kleiner zu erwarten als die berechneten. Außerdem ist die Bestimmung der realen Temperatur sehr schwierig (siehe oben). Es ist daher davon auszugehen, dass die angenommene Temperatur nicht genau mit der realen Temperatur in der Pumpzelle übereinstimmt. Außerdem wurden alle Messungen als eine Messreihe durchgeführt, d.h. nach jeder Einzelmessung wurde die Pumpzelle wieder mit frischem Gas aus der Mischkammer aufgefüllt. Dies führte dazu, dass nicht immer exakt die gleiche Menge an Gas in der Pumpzelle war. Zusätzlich sind die systematischen Fehler beim Einstellen der Gaskonzentration (*Experimentelle Daten für diesen Versuch: Xenondruck $p_{Xe} = (4,0 \pm 0,7) \cdot 10^{-3}$ MPa, Stickstoffdruck $p_{N_2} = (0,90 \pm 0,04) \cdot 10^{-3}$ MPa, Gesamtdruck $p_g = (0,60 \pm 0,07)$ MPa*), bei der Bestimmung der Integrale am Spektrometer sowie bei der Messung der ausgefrorenen Xenongas-Konzentration zu berücksichtigen. Diese Fehler wurden in den Diagrammen mit Fehlerbalken gekennzeichnet. Zusätzlich wurden alle experimentell benötigten Daten noch mit ihrem Fehler versehen.

Wie in Abbildung 8.6 zu sehen ist, stimmen die experimentellen und die berechneten Werte tendenziell gut überein. Beide zeigen ein lineares Ansteigen der Xenonkernspinpolarisation, beide haben ihr Maximum bei etwa derselben Temperatur und beide Kurven zeigen einen exponentiellen Abfall. Diese Form der Kurven erklärt sich aus der Tatsache, dass bei geringer Temperatur noch nicht genügend Rubidiumdampf vorhanden ist, um ein Maximum an Xenon-Atomen zu polarisieren. Von einer bestimmten Temperatur an sind dann so viele Rubidium-Atome vorhanden, dass die gesamte Laserleistung bereits vor dem Ende der Pumpzelle absorbiert wird und somit zu viele unpolarisierte Rubidium-Atome im hinteren Teil vorhanden sind, die mit den Xenon-Atomen wechselwirken. Es entsteht daher ein Bereich in der Pumpzelle, in dem die Xenonkernspinpolarisation nicht mehr erhöht wird.

Die Abweichung zwischen den beiden Kurven bei niedrigen Temperaturen könnte auf eine Abweichung der angenommenen Rubidiumdichte in der Pumpzelle von der tatsächlichen Rubidiumdichte zurückzuführen sein. Gründe hierfür könnten zum einen sein, dass noch eine Schicht von Verunreinigungen über dem Rubidium liegt und diese erst nach mehrmaligem Gaswechsel aus der Pumpzelle verschwindet. Außerdem könnte die unter 8.3.1 diskutierte Vorheizdauer eine Rolle spielen. Möglicherweise sind bei niedrigeren Temperaturen längere Heizzeiten nötig. Außerdem sollten bedacht werden, ob nicht ebenso wie bei den Berechnungen zur Stickstoffabhängigkeit (siehe Kapitel 8.3.6) noch unberücksichtigte Parameter mit in die theoretischen Berechnungen einzubeziehen sind. Um die ersten Messungen zu bestätigen, wurde eine zweite Messreihe durchgeführt. Deren Ergebnisse bestätigen im Rahmen des Fehlers die erste Messreihe.

Zwar konnte die Berechnung die Ergebnisse des Experiments für niedrige Temperaturen nicht richtig vorhersagen, beim eigentlichen Ziel der Untersuchungen, nämlich die Temperatur für eine möglichst gute Xenonkernspinpolarisation zu finden, stimmen Experiment und Berechnung sehr gut überein, ebenso für hohe Temperaturen.

8.3.4 Optimierung des Xenondrucks

Nach der Optimierung der Temperatur wurde die optimale Xenonkonzentration in der Pumpzelle bestimmt. Dazu wurde wiederum die Xenonkernspinpolarisation in Abhängigkeit vom Xenondruck in der Pumpzelle gemessen. Wie bereits in [60] gezeigt wurde, ist bei steigendem Xenondruck eine Abnahme der Xenonkernspinpolarisation zu erwarten. In Abbildung 8.7 sind wiederum die gemessenen Daten zusammen mit den numerisch berechneten Daten dargestellt. Die experimentellen Bedingungen für diese Messreihe waren die folgenden: *Pumpzellentemperatur* $T = 418 \pm 2 \text{ K}$, *Gesamt-*

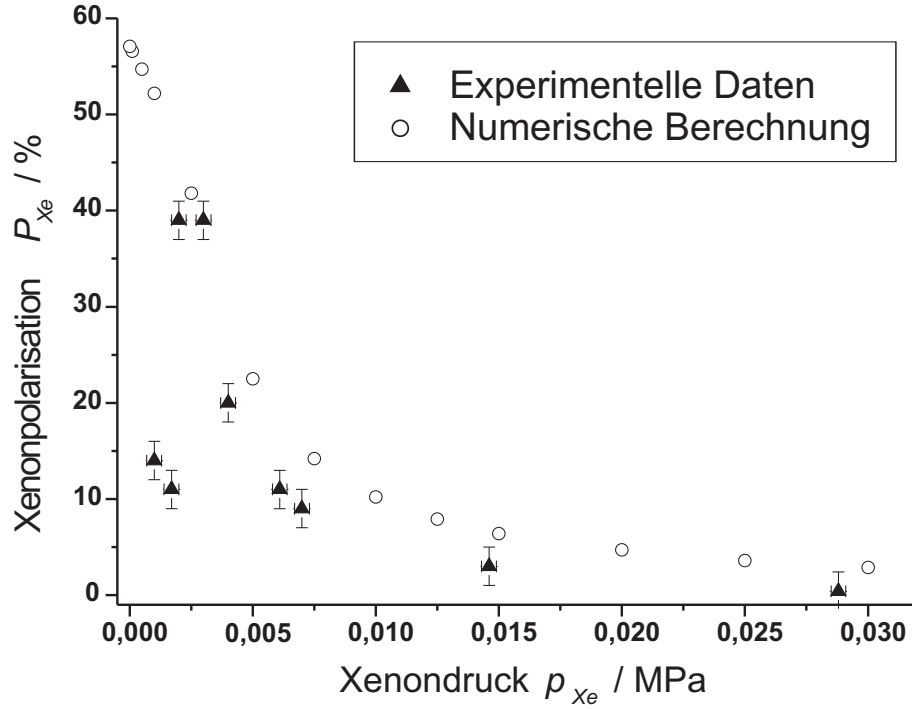


Abbildung 8.7: Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} in Abhängigkeit vom Xenondruck p_{Xe} . Experimentelle Daten und berechneten Daten.

druck $p_g = (0,60 \pm 0,07)$ MPa, Stickstoffdruck $p_{N_2} = (0,010 \pm 0,007)$ MPa.

Wie erwartet nimmt oberhalb von ca. 0,0030 MPa die gemessene Xenonkernspinpolarisation mit steigendem Xenondruck ab. Dieses Verhalten steht in Übereinstimmung mit der berechneten Kurve [27] und somit auch mit den Relaxationsgleichungen. Mit zunehmender Xenonteilchenzahl nehmen die Xenon-Xenon-Wechselwirkungen zu und nach Gleichung 2.8 erhöht sich dadurch die Relaxationsrate für Xenon Γ , was zu einer Verringerung der Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} führt. Außerdem nimmt die Wahrscheinlichkeit für Stöße der Xenon-Atome mit der Wand zu, was ebenso zu Relaxation führt. Im Gegensatz zu den Berechnungen ist unterhalb von 0,0018 MPa die Xenonkernspinpolarisation jedoch wesentlich geringer als erwartet. Der Grund dafür ist, dass sich bei geringer Teilchenzahl sehr viele hyperpolarisierte Xenon-Atome in direktem Kontakt mit den Wänden der Kühlfalle und den Wänden der Hochdruckmessapparatur befinden und durch Relaxation ihre Kernspinpolarisation abnimmt. Da bei den meisten Anwendungen eine größere Menge von hyperpolarisiertem Xenon erforderlich ist, also das Produkt aus Kernspinpolarisation und Teilchendichte dann maximal sein sollte, wurde für alle weiteren Messungen ein Xenondruck von 0,004 MPa eingestellt.

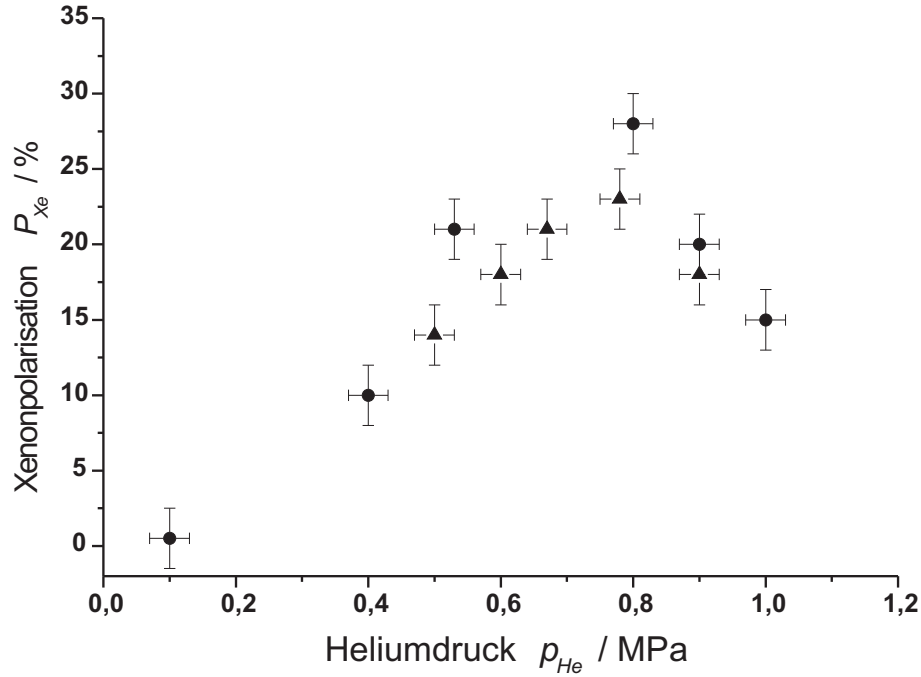


Abbildung 8.8: Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} in Abhängigkeit vom Heliumpartialdruck p_{He} . Um Messfehler beim unerwarteten Abfall der Kurve auszuschließen, wurden zwei Messreihen durchgeführt.

8.3.5 Optimierung der Heliumdrucks

Wie in 2.1.2 bereits erwähnt wurde, wird zur Druckverbreiterung der Absorptionslinie des Rubidium-D1-Übergangs Helium eingesetzt. Dadurch soll möglichst viel Laserleistung absorbiert werden, um somit eine entsprechend hohe Rubidiumpolarisation zu erhalten. Daher sollte bei steigendem Heliumdruck auch die Xenonkernspinpolarisation zunehmen bzw. schließlich ein Plateau erreichen. In Abbildung 8.8 ist die Xenonkernspinpolarisation in Abhängigkeit vom Heliumdruck dargestellt. Dabei lagen die folgenden experimentellen Bedingungen vor: *Pumpzellentemperatur* $T = 418 \pm 2 \text{ K}$, *Xenondruck* $p_{Xe} = (0,045 \pm 0,8) \cdot 10^{-3} \text{ MPa}$, *Stickstoffdruck* $p_{N_2} = (0,010 \pm 0,008) \text{ MPa}$. Wenn die Pumpzelle mit Gas gefüllt wird, geschieht dies bei Raumtemperatur $T = 293 \text{ K}$. Durch die anschließende Temperaturerhöhung steigt der Gesamtdruck jedoch zusätzlich. Nach [61] kann zur Berechnung des Drucks in der Pumpzelle in Abhängigkeit von der Pumpzellentemperatur die ideale Gasgleichung verwendet werden. Somit ergeben sich die in Tabelle 8.1 aufgeführten Werte für den Gesamtgasdruck in der Pumpzelle. In Abbildung 8.8 ist der reine Heliumdruck angegeben.

Bis zu einem Heliumdruck von 0,8 MPa verhalten sich beide gemessene Kurven wie

p_{He} / MPa	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1
T / K	416	416	416	416	436	436
p_g / MPa	0,1	0,3	0,6	0,9	1,2	1,5

Tabelle 8.1: *Erhöhung des Gesamtgasdrucks in der Pumpzelle auf grund der Temperaturveränderung in der Pumpzelle.*

von der Theorie vorausgesagt. Danach geht die Xenonkernspinpolarisation allerdings wieder zurück. Dabei ist zu beachten, dass bei 0,8 MPa eine deutliche Verringerung der Laserabsorption zu beobachten ist. Um dies zu kompensieren, wurde die Temperatur von diesem Druck an auf 436 K erhöht. Zur Bestätigung dieses Verhaltens, wurde eine zweite Messreihe durchgeführt, welche die gemessenen Daten reproduzierte. Eine Verringerung der Kernspinpolarisation des Xenons als Folge der Temperaturerhöhung bei 0,9 MPa lässt sich ausschließen, da ja bereits bei 0,8 MPa die Temperatur erhöht wurde. Der weitere Abfall der Xenonspinpolarisation kann somit nicht auf die Temperaturerhöhung zurückgeführt werden. Messungen bei noch höheren Drücken waren nicht möglich, da die Pumpzelle dies nicht zulässt.

Nach [62] kommt es bei Gasdrücken oberhalb des atmosphärischen Druckes zu einem Anstieg des Dampfdrucks und somit zu einer Erhöhung der Rubidiumdichte. Dies konnte aber in diesem Fall aus zwei Gründen ausgeschlossen werden. Erstens kommt es nach [62] bei einer Druckänderung um 1 MPa nur zu einer Erhöhung der Rubidiumdichte von 2%. Dies führt bei den hier verwendeten Drücken zu keiner signifikanten Änderung der Rubidiumpolarisation, da diese 2-prozentige Zunahme der Teilchendichte einer Temperaturerhöhung von weniger als einem Kelvin entspricht. Zweitens wurde, wie oben bereits erwähnt, die Laserabsorption geringer, was auf eine geringere Menge an Rubidium deuten würde. Somit muss nach anderen Erklärungen für das unerwartete Verhalten der Heliumdruckkurve gesucht werden.

8.3.6 Optimierung des Stickstoffdrucks

Der einzige Parameter, der nicht über die Xenonkernspinpolarisation optimiert wurde, ist der Stickstoffdruck. Der Stickstoff wird hauptsächlich zur Verhinderung des *radiation trapping* dem Gas beigemischt. Somit ist es ausreichend, das Absorptionsverhalten des Lasers bei verschiedenen Stickstoff- und Heliumdrücken zu betrachten. Während der Messungen wurde immer ein konstanter Gesamtdruck von $p_g = (0,5 \pm 0,07) \text{ MPa}$ in der Pumpzelle beibehalten. Die Anteile an Helium und Stickstoff wurden variiert. Das Messergebnis ist zusammen mit den numerischen Berechnungen in Abbildung 8.9 zu sehen. Es zeigt sich zunächst ein Rückgang der Laserabsorption

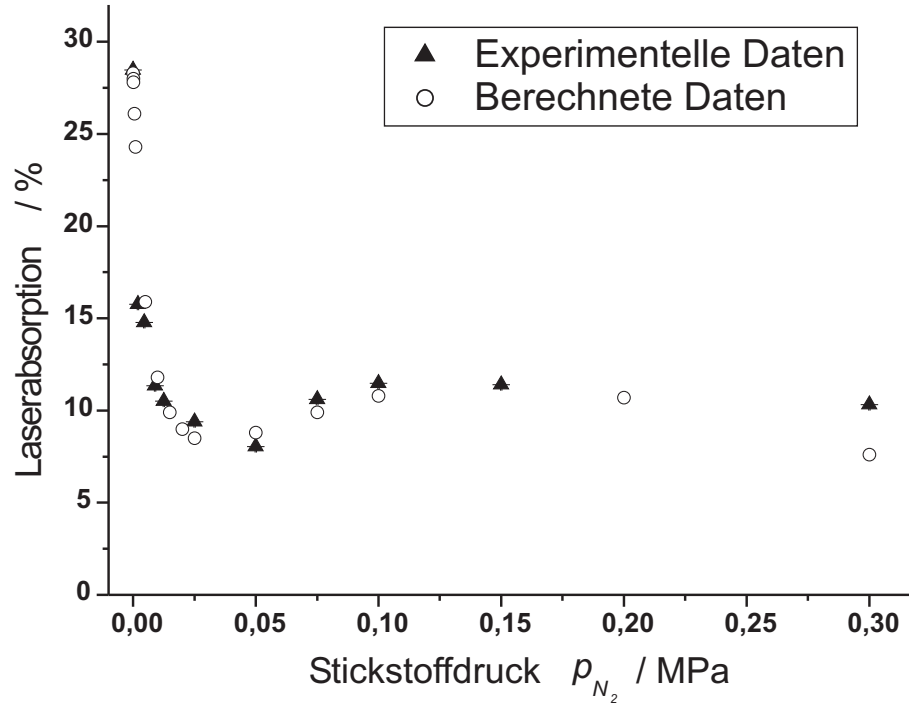


Abbildung 8.9: *Laserabsorption in Abhängigkeit von der Stickstoffkonzentration. Zu sehen sind die experimentelle Ergebnisse und die berechneten Daten.*

mit steigendem Stickstoffanteil in der Pumpzelle bis zu einem Stickstoffdruck von 0,05 MPa, was einem Anteil von 10% Stickstoff entspricht. Unter diesen Bedingungen ist der Rubidiumdampf fast durchlässig für den Laserstrahl. Das heißt, dass sich ein Gleichgewichtszustand eingestellt hat, bei dem sich nahezu alle Rubidium-Atome im polarisierten Zustand befinden. Danach steigt die Laserabsorption wieder an. Es sind also wieder mehr nicht polarisierte Rubidium-Atome vorhanden. Durch Erhöhung der Stickstoffkonzentration kommt es offenbar zu vermehrten Stickstoff-Rubidium-Stößen und zur Depolarisation der Rubidium-Atome, was wiederum zu einer Verringerung der Xenonkernspinpolarisation führt [27]. Am besten erklären lässt sich die Kurve durch die Annahme, dass Rubidium, Helium und Stickstoff Van-der-Waals-Moleküle bilden. Auf diesem Weg findet dann die Zerstörung des Elektronenspins des Rubidiums statt. Die Experimente stimmen sehr gut mit unseren Berechnungen überein, wenn der genannte Relaxationsweg in Gleichung 2.2 zur Spinzerstörungsrate Γ_{SD} des Rubidiums hinzugefügt wird. Dieser ergänzende Beitrag ist gegeben durch:

$$\gamma_{trap} = 40000s^{-1} \frac{3}{3 + 0,0006p_{N_2}/Pa}, \quad (8.3)$$

wobei p_{N_2} der Stickstoffdruck in Pascal ist. Eine detaillierte Beschreibung der dazugehörigen Berechnungen ist in [27] zu finden. Es ist aber davon auszugehen [17], dass

bei ca. 10 %-gem Anteil von Stickstoff in der Gesamtmischung der Gase das *radiation trapping* zu vernachlässigen ist.

8.3.7 Ergebnisse der Optimierung der verschiedenen Pumpparameter

Aus den beschriebenen Messergebnissen ergeben sich folgende optimale Werte, die für alle nachfolgenden Anwendungen verwendet wurden: Die Pumpdauer sollte zwischen 3 und 4 Minuten liegen, wobei die Zeitnahme dann beginnt, wenn ein deutlicher *Dip* im Laserabsorptionsspektrum zu beobachten ist. Als Vorheizdauer werden 2 Stunden bei 418 K gewählt. Das Gasgemisch sollte einen Gesamtdruck p_g von 0,65 MPa aufweisen; dabei beträgt der Xenondruck $p_{Xe} = 0,0044$ MPa und der Stickstoffdruck $p_{N_2} = 0,05$ MPa. Im Durchschnitt erreicht man dann eine Xenonkernspinpolarisation P_{Xe} von ca. 25 %.

8.4 Ansammlung und Lagerung von gefrorenem, hyperpolarisiertem Xenon

Da die in einem einzigen *single-batch*-Experiment gewonnene Menge an hyperpolarisiertem Xenon für viele Anwendungen nicht ausreicht, wurden mehrere *single-batch*-Experimente hintereinander ausgeführt und das ausgefrorene Xenongas in der Kühlfalle angesammelt.

Da sich die Kühlfalle in flüssigem Stickstoff, sowie in einem Hufeisenmagnet mit einem Magnetfeld von 0,04 T befindet, relaxiert das hyperpolarisierte Xenon darin exponentiell mit einer Relaxationszeit T_1 von ca. 60 Minuten [55]. Da man weiß, dass die Xenonkernspinpolarisation bei einem *single-batch*-Experiment im Durchschnitt bei 25 % liegt, lässt sich daraus die Höhe der Kernspinpolarisation des angesammelten Xenons berechnen. Bei einer Pumpzeit von 3,5 Minuten und zusätzlichen 1,5 Minuten für das Ausfrieren und das Wiederbefüllen der Pumpzelle mit frischem Gas, ergibt sich zusammen mit den vorher gemachten Annahmen eine Kernspinpolarisation für das in der Kühlfalle angesammelte hyperpolarisierte Xenon wie in Abbildung 8.10 dargestellt. Wird beispielsweise die Gasmenge von 4 *single-batch*-Experimenten angesammelt, dauert dies ca. 15 Minuten. Dabei bleibt das hyperpolarisierte Xenon aus dem ersten Experiment 15 Minuten in der Kühlfalle und hat danach eine Kernspinpolarisation von $0,25 \cdot e^{-(15/60)} \cdot 100 \% \approx 19\%$. Das Xenon aus dem zweiten Experiment befindet sich ca. 10 Minuten in der Kühlfalle und hat dann noch eine Kernspinpola-

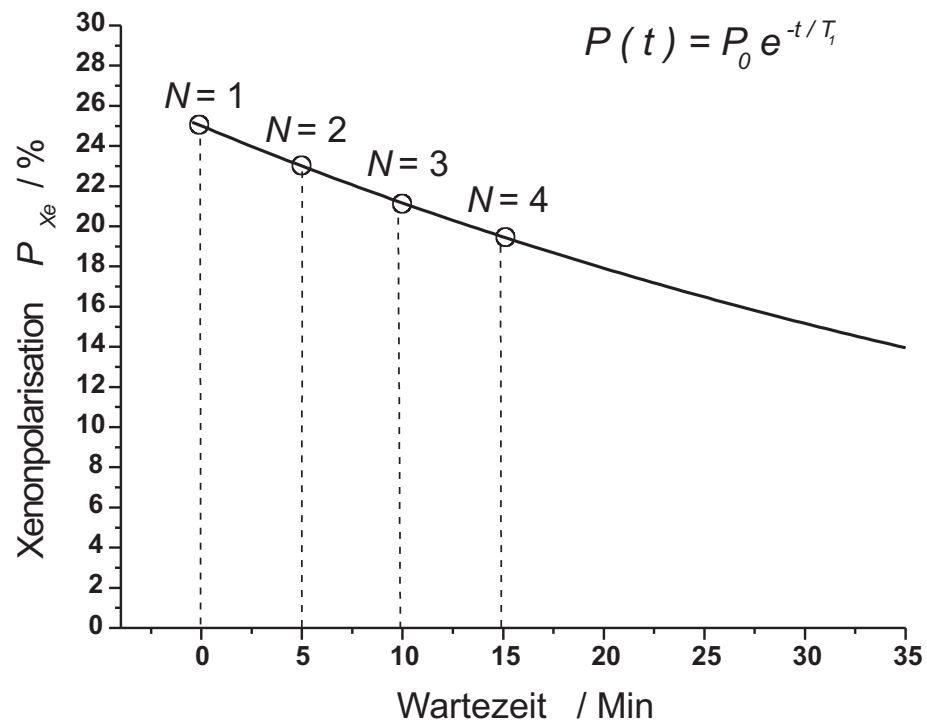


Abbildung 8.10: Xenonkernspinpolarisation in Abhängigkeit von der Anzahl N der Pumpzyklen.

risation von $0,25 e^{-(10/60)} \cdot 100 \% \approx 21\%$, usw. Auf diese Weise lässt sich berechnen, wie hoch die Kernspinpolarisation einer bestimmten Menge an hyperpolarisiertem Xenon-129 nach einer bestimmten Zeit in der Kühlfalle ist.

Kapitel 9

Xenon in Lösungsmitteln

9.1 Löslichkeitsmessungen im *single-batch*-Betrieb

Im Rahmen von vorbereitenden Untersuchungen wurde zunächst hyperpolarisiertes Xenon in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst und anschließend gemessen. Für diese Messungen wurde das Saphirrohr verwendet, da aufgrund seines kleineren Volumens der Druck des hyperpolarisierten Xenons größer und somit die Menge des gelösten Gases in der Flüssigkeit höher ist. Außerdem lässt sich eine kleine Menge an Flüssigkeit besser auftauen. Die Flüssigkeit wurde zu Beginn jedes Experiments mehrmals entgast, d.h. sie wurde so lange in flüssigem Stickstoff eingefroren, wieder aufgetaut und das ausgefrorene Gas am Pumpstand wieder abgepumpt, bis beim Auftauen keine Sauerstoffbläschen mehr aufstiegen. Dann wurde das Probenrohr, wie bei den Messungen an gasförmigen Proben, an die Apparatur zum Hyperpolarisieren angeschlossen und in das Dewar mit flüssigem Stickstoff eingetaucht. Nach dem Polarisieren wurde das Xenongas auf die gefrorene Flüssigkeit überfrozen, zum Spektrometer gebracht, und zusammen mit dem hyperpolarisierten Xenongas im Streufeld des NMR-Magneten wieder in heißem Wasser aufgetaut. Danach wurde die Mischung kräftig geschüttelt und im Spektrometer gemessen. In Abbildung 9.1 sind die NMR-Spektren für hyperpolarisiertes Xenongas in DMSO und H₂O zu sehen. Als wesentliche Erkenntnisse dieser Messungen hat sich folgendes ergeben:

- Die Einfrier-Auftau-Zyklen sind sehr zeitaufwändig, besonders dann, wenn sich wie bei den Lipidlösungen oder bei bestimmten Proteinen beim Auftauen eine Schaumkrone bildet und man mit dem nächsten Einfrieren erst warten muss, bis der Schaum wieder verschwunden ist. Ein solcher Zyklus kann bis zu 3 Stunden dauern.

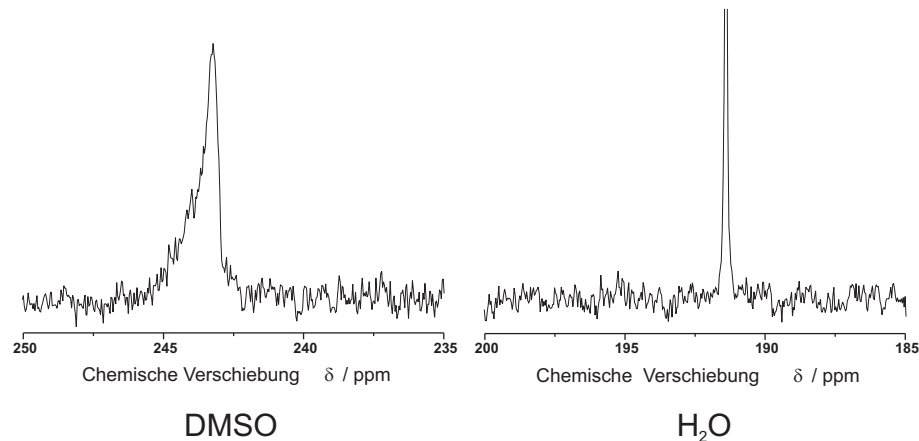


Abbildung 9.1: *Hyperpolarisiertes Xenon gelöst in DMSO und H₂O bei jeweils 298 K. Die experimentellen Daten zur Herstellung des hyperpolarisierten Xenons waren: $p_g=0,65$ MPa, $p_{Xe}=0,004$ MPa, $p_{N_2}=0,05$ MPa, $T=418$ K*

- Das wiederholte Einfrieren und Auftauen, gefolgt vom Auftauen am Spektrometer mit heißem Wasser, schädigt die Saphirrohre.
- Bei Flüssigkeiten mit sehr hohem Schmelzpunkt dauert das Auftauen am Spektrometer weit über 10 s; dies führt zu erheblichen Polarisationsverlusten.
- Einige Flüssigkeiten sind sehr zähflüssig und lassen sich im engen Saphirrohr nur schwer schütteln. Somit gelingt es nicht, das Xenongas mit der Flüssigkeit zu vermischen oder es bleibt ein Teil der Flüssigkeit im oberen Teil des Probenrohrs hängen. Dann ist entweder zu wenig Gas gelöst oder die Flüssigkeit fehlt im Messbereich der NMR-Spulen.
- Die Löslichkeit des Xenons ist zu gering, um mit dieser Technik genügend Gas in der Flüssigkeit zu lösen.

Um weitere Messungen mit dieser Anlage durchführen zu können, wurden für die SPINOE Messungen immer 4 *single-batch*-Pumpexperimente nacheinander ausgeführt und das hyperpolarisierte Xenon angesammelt. Allerdings wurden unabhängig davon neue Möglichkeiten zur besseren Lösung von hyperpolarisiertem Xenon in Flüssigkeiten gesucht. Ein wesentlicher Schritt in diese Richtung gelang durch die Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz, (Arbeitsgruppe von Herrn Professor Dr. Spiess). Es konnte eine neuartige Apparatur [63] entwickelt werden, welche das Inlösungbringen von hyperpolarisiertem Xenon wesentlich erleichtert und effizienter gestaltet. Im Nachfolgenden wird diese neue Membranapparatur näher erklärt, sowie erste Messreihen damit beschrieben. Die Messungen mit der Apparatur wurden alle am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz an einem

300 MHz Spektrometer der Firma Bruker durchgeführt.

9.2 Löslichkeitsmessungen im Durchfluss-Betrieb

9.2.1 Die Membranapparatur



Abbildung 9.2: Apparatur zum Lösen von hyperpolarisiertem Xenon-129 in Flüssigkeiten [63].

Diese in der Gruppe von Herrn Professor Dr. Spiess neu entwickelte Apparatur wird unter Verwendung einer Anlage zum optischen Spinaustausch-Pumpen im Durchfluss-Betrieb benutzt. Dabei strömt das Gas kontinuierlich während der Messung durch die optische Pumpzelle, wird also während des Durchflusses polarisiert und gelangt über eine Schlauchleitung direkt zum NMR-Spektrometer. Dort fließt das hyperpolarisierte Gas durch die Apparatur, die sich direkt im Lösungsmittel befindet, d.h. das Xenon wird direkt in die Flüssigkeit gebracht und das verbrauchte Gas über eine Leitung wieder abgepumpt. Dieses Vorgehen garantiert einen anhaltenden Strom frisch polarisierten Xenons, im Gegensatz zum *single-batch*-Betrieb, bei dem die Hyperpolarisation mit der für das Lösungsmittel charakteristischen Relaxationszeit T_1 verloren geht.

Diese Apparatur ist in Abbildung 9.2 zu sehen, während sein schematischer Aufbau in Abbildung 9.3 dargestellt ist. Die Apparatur besteht aus ca. 50 einzelnen Membranen, die in einem 10 mm Standard-NMR-Probenrohr so zusammen gepackt sind, dass sie eine Schleife bilden. Eine solche Membran (CELGARD®, Membrana GmbH, Wuppertal, Deutschland) ist eine Hohlfaser mit 300 μm Außendurchmesser und 240 μm Innendurchmesser und wird in der Medizin in Herz-Lungen-Maschinen zum Sauerstoffaustausch verwendet. Die Fasern bestehen aus Polyethylen mit einer durchschnittlichen Porengröße von 0,03 μm . Um Gaslecks vorzubeugen, wurde das Membranbündel direkt oberhalb des NMR-Rohrs in einen Polyurethan-Schlauch eingeklebt, welcher mit der Polarisationsanlage verbunden werden kann. Besonders wichtig ist, dass das Gas nicht unter Blasen- und Schaumbildung

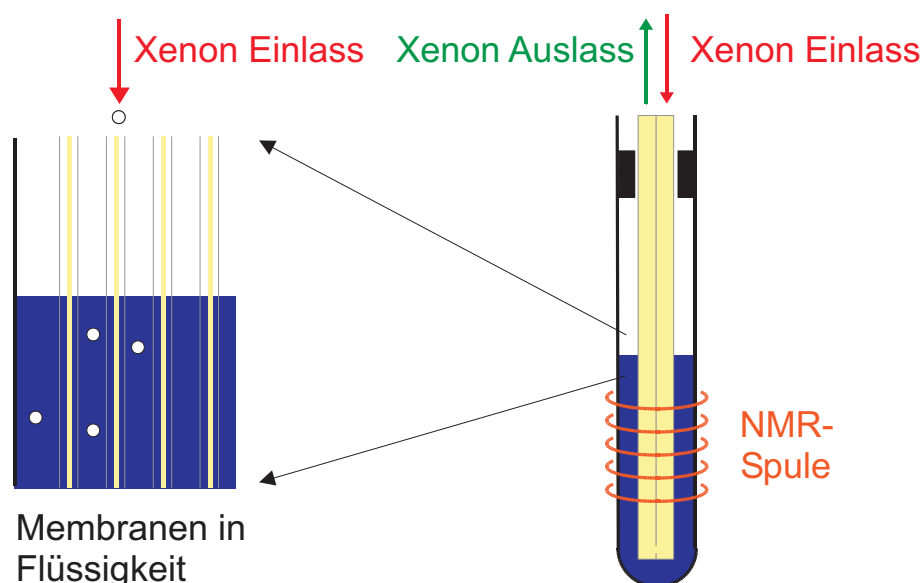


Abbildung 9.3: Schematische Darstellung der Membranapparatur, [64]. Rechts: Die Apparatur in einem NMR-Messrohr mit einer Flüssigkeit. Links: Der Ausschnitt zeigt die Membranen und das in das Lösungsmittel eindiffundierende Xenongas.

in die Flüssigkeit eingebracht wird, sondern kontinuierlich über die Mikroporen in die Flüssigkeit diffundieren kann. Das Membransystem wurde bis zu einem Druck von 1 MPa getestet. Weitere Einzelheiten über das Membransystem können in [63] nachgelesen werden.

Die Ergebnisse erster Messungen mit H_2O und DMSO sind in Abbildung 9.4 gezeigt. Der Gesamtdruck des Gases lag bei 0,7 MPa (bei einem Xenonanteil von 3,8 %). Sehr bemerkenswert ist die gute Auflösung der NMR-Signale für das gelöste Xenon. Sie liegen bei 0,3 bzw. 0,4 ppm und ermöglichen damit Messungen der chemischen Verschiebung mit einer Genauigkeit von 0,03 bzw. 0,04 ppm. Die Linienbreiten der beiden Gassignale (bei jeweils ca. 0 ppm in Abbildung 9.4) sind größer als die der Flüssigkeitssignale, da diese Signale von Xenon stammen, das sich in der Membran befindet und somit durch eine stark inhomogenen Umgebung gekennzeichnet ist. Wenn man diese Spektren mit den Aufnahmen in Abbildung 9.1 vergleicht, so erkennt man am Signal-Rausch-Verhältnis (S/N) der einzelnen Spektren die wesentlich besseren Ergebnisse bei Messungen mit der Membranapparatur. Die experimentell bestimmten Signal-Rausch-Verhältnisse sind Tabelle 9.1 zu entnehmen. Obwohl bei der herkömmlichen Methode die Kernspinpolarisation mittels *single-batch*-Methode aufgebaut wurde und daher die Xenonkernspinpolarisation höher lag als im Durchfluss-Betrieb, sind die Signal-Rausch-Verhältnisse für hyperpolarisiertes Xenon, die mit der neuen Appara-

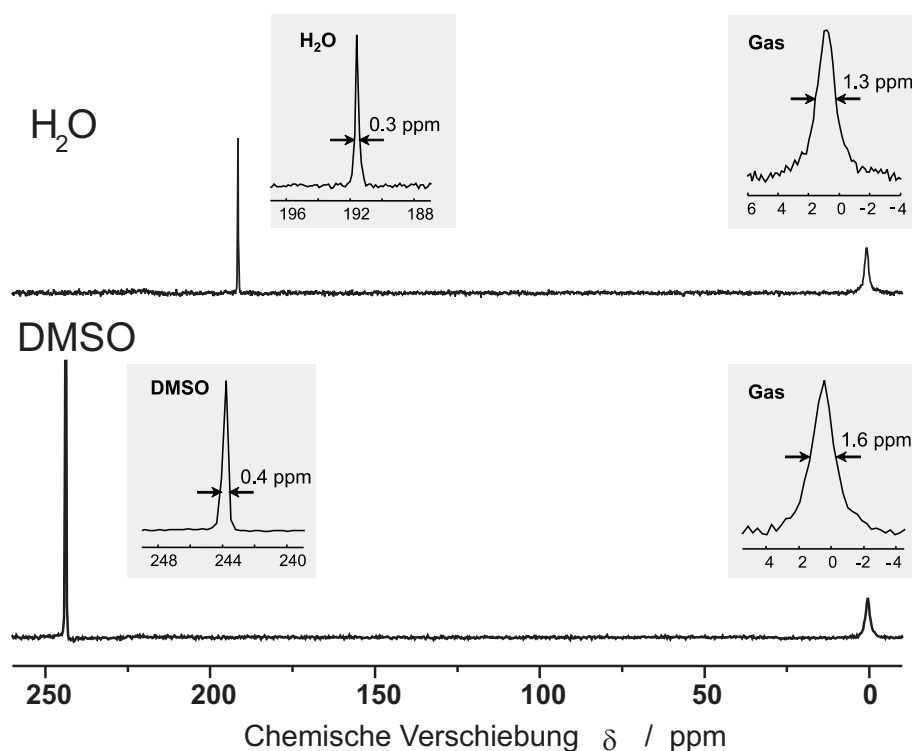


Abbildung 9.4: *Xenon-129* NMR-Spektren von hyperpolarisiertem Xenon, gelöst in H_2O (oben) und DMSO (unten). Beide Aufnahmen wurden mit 2 Scans, bei 298 K gemacht. Die Linienbreite der Signale ist in den Insets angegeben [64].

tur erzielt wurden doch wesentlich größer. In Tabelle 9.1 erkennt man auch, dass bei der herkömmlichen Methode die auf grund der Löslichkeit zu erwartenden Gasmenngen nicht in Lösung gehen. In DMSO müsste sich laut Tabelle 5.1 wesentlich mehr Xenon lösen als in H_2O . Das experimentell erzielte niedrigere Ergebnis zeigt, dass es nicht möglich ist, das hyperpolarisierte Xenon vollständig durch Schütteln in das Lösungsmittel zu bringen. Somit eignet sich die neue Apparatur hervorragend für hochauflösende NMR-Untersuchungen. Die Gassignale können jeweils zum Kalibrieren der NMR-Spektren benutzt werden. Dazu muss man lediglich den Anteil an Xenongas in der Gesamtgas Mischung kennen und kann dann mit Gleichung 5.1 die chemische Verschiebung des Gassignals berechnen. Zum Kalibrieren wird das Gassignal auf den berechneten Wert eingestellt und man erhält damit die chemische Verschiebung von Xenon-129 in der jeweiligen Flüssigkeit. Die chemischen Verschiebungen für Xenon in

Lösungsmittel	DMSO(alt)	DMSO(neu)	H_2O (alt)	H_2O (neu)
S/N	10	357	23	105

Tabelle 9.1: *Signal-Rausch-Verhältnisse der Lösungsmittel DMSO und H_2O . Jeweils gelöst durch schütteln (alt) oder mittels der neuen Membranapparatur (neu).*

H₂O und DMSO wurden auf diese Weise berechnet und entsprachen den bekannten Werten.

9.2.2 Erste experimentelle Anwendungen der Membranapparatur

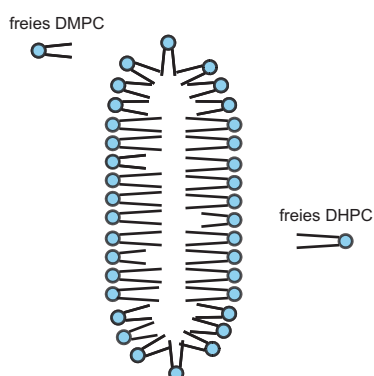


Abbildung 9.5: *Graphische Darstellung einer Bizelle aus den Phospholipiden DHPC und DMPC, nach [57].*

Um die Zuverlässigkeit der Durchfluss-Technik mit der neuen Membranapparatur zu testen, wurde eine wässrige Lösung mit den Phospholipiden DHPC und DMPC untersucht. Diese Lipide bilden wie unter 7.5 beschrieben in einem bestimmten Temperaturbereich, pH-Wert und bei einer bestimmten Konzentration Bizellen (siehe Abbildung 9.5), welche sich in einem Magnetfeld orientieren. Diese Bizellen sind aus drei Gründen interessante Untersuchungsobjekte. Zum einen neigen sie als Lipide sehr zur Schaumbildung, was die neue Membranapparatur gerade verhindern soll, zum anderen können sie als Modellsystem für biologische Membranen angesehen werden, da Zellmembranen aus Lipid-Doppelschichten

bestehen. Außerdem werden magnetisch orientierende Bizellen in der NMR verwendet, um gelöste Moleküle partiell auszurichten. Um sicherzustellen, dass Bizellen vorliegen, betrachtet man das H-2 NMR-Signal der Probe. Nach [65] zeigt das H-2 NMR-Signal eine charakteristische residuale Quadrupolaufspaltung in ein Dublett. Am einfachsten überprüft man diese während der Messung durch Kontrolle des sogenannten *Lock-Signals* am NMR-Spektrometer. Da einem Dublettsignal als Fouriertransformierte eine Schwebung im Zeitbereich entspricht, genügt es, dieses während der Messungen zu beobachten. Sollte keine *Lock-Einrichtung* am Spektrometer vorhanden sein, kann man auch die H-1 NMR-Signale der Lösung heranziehen. Wenn orientierte Bizellen vorhanden sind, kommt es aufgrund der hohen Ordnung im Medium zuerst zu einer Verbreiterung der H-1 NMR-Signale welche schließlich den Nachweis der Signale unmöglich macht („Verschwinden“ der Signale). Wenn sich keine Bizellen ausbilden, erhält man wegen der sich isotroph bewegenden Lipid-Moleküle ein gut aufgelöstes H-1 NMR-Spektrum, siehe Abbildung 9.6.

Um nun die Wechselwirkung zwischen Bizellen und Xenon zu untersuchen, muss man (wenn man thermisch polarisiertes Xenon verwendet) die chemische Verschiebung des

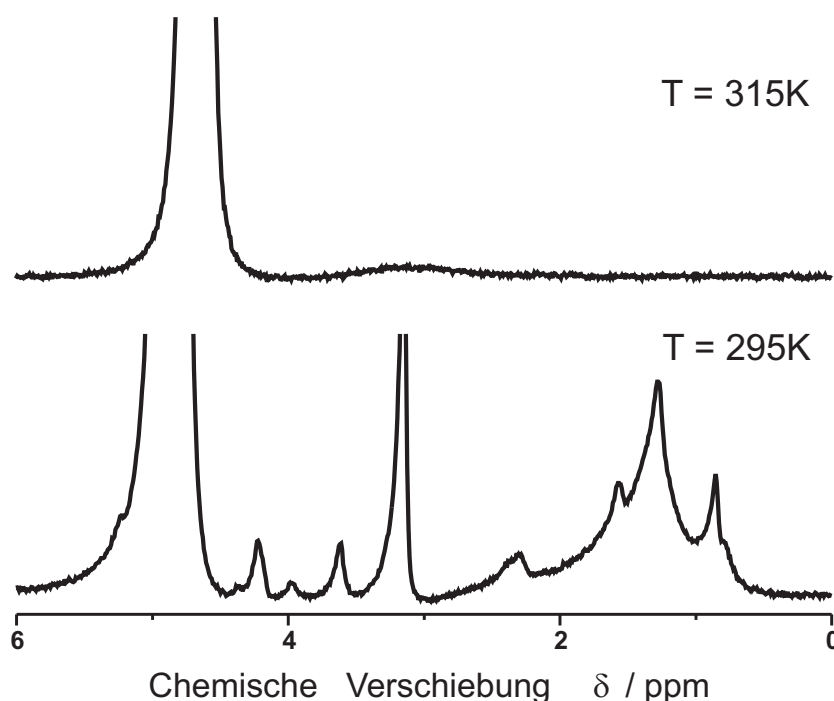


Abbildung 9.6: Protonenspektrum einer wässrigen Lösung mit DHPC/DMPC bei 315 K und 295 K.

Xenonsignals in Abhängigkeit vom Xenondruck messen. Solche Messreihen müssen dann oft bis zu Drücken von 2 MPa gemessen werden, um genügend Signalintensität zu erhalten. Dann muss die chemische Verschiebung auf einen Xenondruck von 0 MPa extrapoliert werden, um die reine Xenon-Molekül-Wechselwirkung zu bekommen. Da das Herstellen der Probe und Equilibrieren im Magnetfeld bis zu 2 Stunden dauern kann, ist eine solche Messreihe sehr zeitaufwendig. Im Gegensatz dazu bietet die Untersuchung mit hyperpolarisiertem Xenon bei einem relativ geringen Xenondruck von ca. 0,02 MPa die Möglichkeit, durch eine einzige Messung ein korrektes Ergebnis zu erhalten.

Um dies zu bestätigen, wurde eine Xenondruckreihe mit thermisch polarisiertem Xenon in einer wässrigen Lösung mit Bizellen von Drücken zwischen 0,25 MPa und 2,00 MPa bei 305 K durchgeführt. Außerdem wurde eine Messung mit hyperpolarisiertem Xenon mit einem Xenondruck von 0,02 MPa im Durchfluss-Betrieb mit der neuen Membranapparatur vorgenommen. Die experimentellen Daten sind in Abbildung 9.7 dargestellt. Für die chemische Verschiebung δ bei 308 K ergab sich folgende Gleichung:

$$\delta/\text{ppm} = 188,5 + 0,88 \cdot p/\text{MPa} \quad (9.1)$$

Der mit einem Kreis gekennzeichnete Punkt in der Messreihe bei 188,5 ppm wurde, wie oben erwähnt, mit hyperpolarisiertem Xenon-129 gemessen. Er passt außeror-

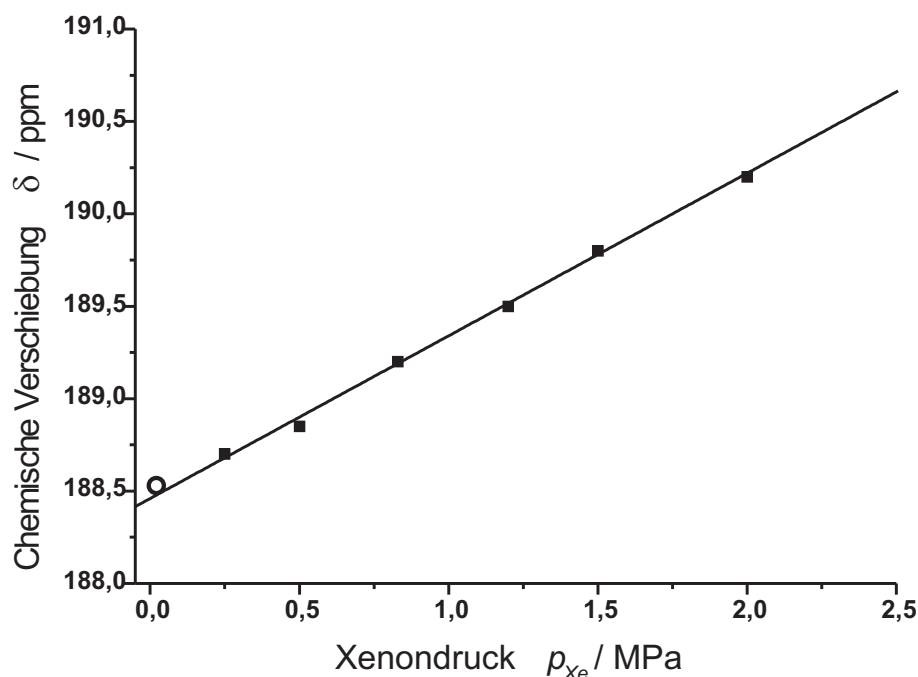


Abbildung 9.7: Chemische Verschiebung von Xenon-129 in Abhängigkeit vom Xenondruck bei 308 K in einer wässrigen Lösung mit Bizellen. Der Messpunkt mit dem Kreis kennzeichnet die mit hyperpolarisiertem Xenon aufgenommene Messung [64].

dentlich gut in die Messkurve. Dies bestätigt die Zuverlässigkeit und die Exaktheit der Messung mittels hyperpolarisierten Xenon, welches in die Lösung durch die Membranapparatur eingebracht wird.

Somit konnte gezeigt werden, dass die Methode, hyperpolarisiertes Xenon im Durchfluss-Betrieb über eine Hohlfaser in eine Lösung zu bringen, vielversprechend ist. Da das Gas in die Lösung diffundiert, entstehen keine Blasen und der Xenonfluss muss nicht wie in [66] während der Messung abgestellt werden, um eine gute Auflösung der Spektren zu erhalten. Da das hyperpolarisierte Xenon kontinuierlich durch die Probe fließt, lassen sich auch mehrdimensionale NMR-Experimente durchführen. Außerdem entfällt die zeitaufwändige Entgasung der Proben, da ja der kontinuierliche Fluss immer wieder frisches hyperpolarisiertes Xenon in die Lösung bringt, ebenso wie die langwierige Herstellung der Hochdruckproben. Die Membran ist in vielen Medien stabil. Als zukünftiges Ziel soll die Apparatur in Regensburg auch komplett auf den Durchfluss-Betrieb unter Einbeziehung der neuen Membranapparatur umgestellt werden, um vor allem die im nächsten Kapitel beschriebenen SPINOE-Experimente effizienter gestalten zu können.

Kapitel 10

Anwendungen des SPINOE

Der SPINOE beschreibt den Übertrag der Kernspinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf andere Kerne. In dieser Arbeit wurde der Spinpolarisationsübertrag auf Protonen untersucht. Das SPINOE-Signal der Protonen kann prinzipiell durch Subtraktion des H-1-Gleichgewichtssignals von dem durch SPINOE verstärkten H-1-Signal gemessen werden. Zunächst wurde versucht, mit dem im *single-batch*-Betrieb erzeugten hyperpolarisierten Xenon am 500 MHz Spektrometer mit der *Schütteltechnik* eine Differenz zwischen den beiden Spektren zu messen, was aber nicht gelang. Ebenso wenig gelang dies mit hyperpolarisiertem Xenon, welches im Durchfluss-Betrieb erzeugt wurde und am 300 MHz Spektrometer in Mainz mittels der neuen Membranapparatur gemessen wurde. Dies liegt daran, dass der Wert des SPINOE-Signals in Lösungen meist nur wenige Prozent des Wertes des Gleichgewichtssignals beträgt, weil die T_1 -Relaxationszeit der Protonen sehr kurz und/oder die Xenonkonzentration in Lösung gering ist, siehe Gleichung 3.3. Daher wurde eine aus der Literatur bekannte Pulssequenz [36] für unsere Zwecke umgeschrieben und an verschiedenen Molekülen getestet.

10.1 Pulsprogramm zur Messung eines SPINOE-Differenzspektrums

Um den Polarisationstransfer zwischen hyperpolarisiertem Xenon-129 und den Protonen in einer Lösung sichtbar zu machen, wurde die Pulssequenz aus Abbildung 10.1 benutzt. Das Pulsprogramm ist im Anhang angegeben. In dieser Pulssequenz werden vor jedem zweiten FID die beiden Invertierungspulse ausgelassen und man erhält somit zwei aufeinander folgende Protonenspektren mit gleicher Mischzeit τ_m , aber mit

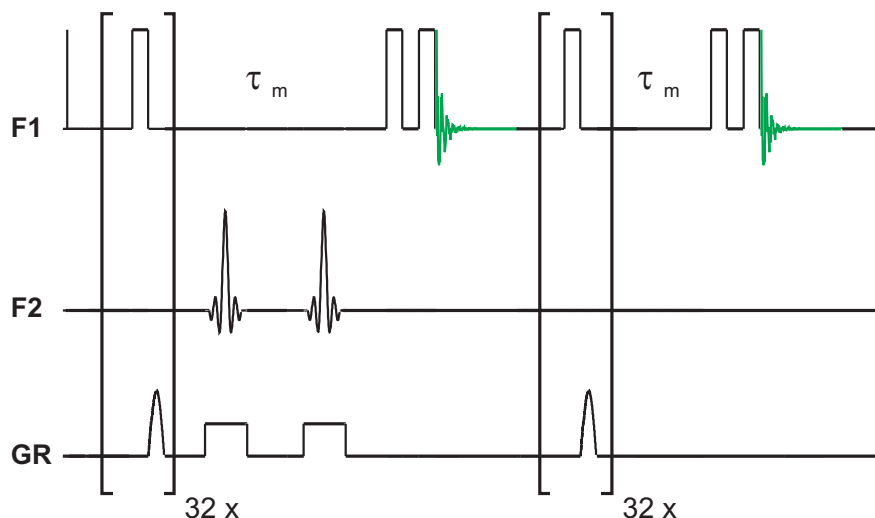


Abbildung 10.1: Schematische Darstellung der Pulssequenz zur Messung eines SPINOE-Differenzspektrums nach [36]. Der F1-Kanal ist der Protonenkanal, im F2-Kanal wird das Xenon angeregt und detektiert. GR steht für die Gradientenspulen. Im F1-Kanal sind die 90-Grad-Sättigungspulse, sowie die 90-Grad-Auslesepulse zur Detektion des FID-Signals zu sehen. Im F2-Kanal sind zwei CHIRP-Pulse eingezeichnet, welche durch die Mischzeit τ_m getrennt sind. Außerdem sind unter GR noch zwei Pulse mit verschiedenen Gradienten eingezeichnet.

entgegengesetzter Xenon-Magnetisierung. Durch deren Subtraktion erhält man ein Signal, das dem doppelten Polarisationstransfer von Xenon-129 auf H-1 entspricht. Im folgenden werden nun die Einzelheiten des Pulsprogramms genauer erläutert.

Die Pulssequenz beginnt mit zweiunddreißig 90-Grad-Pulsen im F1-Kanal (hier: Protonenkanal) an deren Ende jeweils ein Gradientenpuls geschaltet wird. Die zweiunddreißig 90-Grad-Pulse sind um jeweils 90° phasenverschoben und dienen zur Sättigung der Magnetisierung der Protonen in der Lösung; der angelegte Gradientenpuls dephasiert die transversale Magnetisierung, die durch nicht optimal eingestellte Pulse entstehen kann. Danach werden zwei CHIRP-Pulse im Abstand von τ_m im F2-Kanal erzeugt (Xenon-129). Sie dienen zur Inversion des Xenonsignals. Am Ende der Pulssequenz befinden sich zur Signalaufnahme noch zwei phasenverschobene 90-Grad-Pulse. Es folgt die Messung des FID. Um ein Differenzspektrum zu erhalten, wird die Pulsfolge ein zweites Mal, allerdings ohne die CHIRP-Pulse, durchlaufen.

Zur Inversion der Xenon-Magnetisierung wurde zunächst ein einfacher 180-Grad-Puls ohne Gradientenpuls getestet. Nach [67] ist es unter Umständen möglich, dass die 180-Grad-Pulse keine perfekte Inversion des Xenonsignals liefern, was zu Artefakten führt und die Effektivität des Polarisationsübertrags vermindern würde. Um dies zu

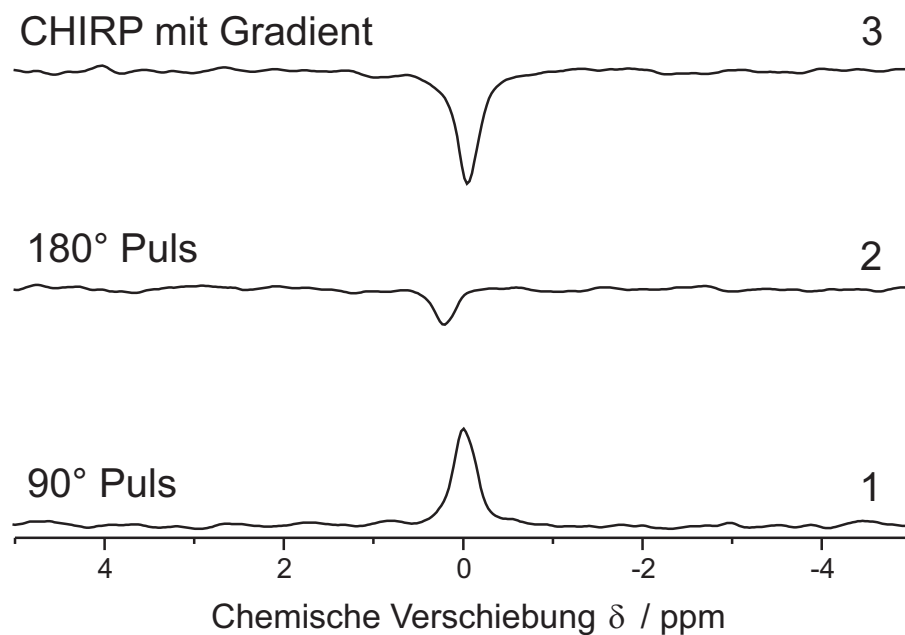


Abbildung 10.2: *Xenon-129 NMR-Spektren von 4 MPa Xenon im thermodynamischen Gleichgewicht. Spektrum 1 ist nach einem 90-Grad-Puls aufgenommen, Spektrum 2 nach einem 180-Grad-Puls und anschließender Anregung mittels 90-Grad-Puls. Spektrum 3 ist nach der Inversion der Magnetisierung mit einem CHIRP-Puls und einem Gradientenpuls sowie anschließender 90-Grad-Puls-Anregung gemessen worden.*

testen, wurde eine Messreihe mit 4 MPa Xenon im thermodynamischen Gleichgewicht durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen sind in Abbildung 10.2 dargestellt. Wie in [67] beschrieben, war es auch hier nicht möglich, das Xenonsignal perfekt zu invertieren. Die Inversion gelingt mittels eines rechtecksförmigen 180-Grad-Pulses nur unvollständig, wobei sogar eine Signalverschiebung auftritt. Gründe hierfür sind zum einen, dass es durch das Schütteln der Probe zu Beginn der Messung zu einer leichten Veränderung der Pulslängen kommen kann. Zum anderen spielt das *radiation damping* eine wesentliche Rolle. Es tritt bei Proben mit hoher Spinkonzentration oder großer Polarisierung auf. Die daraus resultierende starke Magnetisierung der Probe induziert einen Strom in der Empfängerspule, dessen Magnetfeld wiederum mit den Kernspins in der Probe wechselwirken kann. Um dies zu verhindern, verwendet man einen *smoothed CHIRP-Puls* mit gleichzeitigem Feldgradienten. Bei dieser Art von Puls handelt es sich um einen adiabatischen Puls, der seine Frequenz kontinuierlich über die Resonanzfrequenz hinweg ändert und somit die Magnetisierung über mehrere Kilohertz perfekt invertieren kann. Durch den Gradienten wird das *radiation damping* unterdrückt, denn der Gradient „zerlegt“ die Probe in verschiedene Teilbereiche mit unterschiedlichen Resonanzfrequenzen. Dadurch wird die Magnetisierung zu unterschiedlichen Zeiten durch den CHIRP-Puls invertiert [67]. Die nahezu exak-

te Inversion des Xenon-129 NMR-Signals mittels des CHIRP-Pulses ist ebenfalls in Abbildung 10.2 dargestellt.

Um zu kontrollieren, ob die Protonensignale ohne SPINOE durch die Pulssequenz perfekt subtrahiert werden, wird vor jeder Messung ein Null-Signal aufgenommen. Anfänglich gelang dies nicht immer vollständig. Deshalb werden vor jeder Messung zwei sogenannte *Dummyscans* durchgeführt (d.h. es wird das komplette Pulsprogramm durchlaufen, aber die FIDs werden nicht aufgezeichnet), um zu Beginn jeder Messung eine stabile Sättigung des H-1 NMR-Signals zu erhalten. Dadurch kann das Gleichgewichtssignal der Protonen praktisch vollständig unterdrückt werden. Es ist noch zu beachten, dass bei der beschriebenen Pulssequenz das SPINOE-Signal infolge der Differenzbildung doppelt aufgenommen wird.

Um zu testen, ob man mit hyperpolarisiertem Xenon-129 wirklich eine lokale Signal-erhöhung des Protonensignals in der Umgebung des Xenons erhält, wurden die ersten SPINOE-Messungen an bekannten Testsystemen durchgeführt.

10.2 Anwendung des SPINOE auf verschiedene Moleküle

10.2.1 SPINOE-Experimente mit dem Lösungsmittel Toluol

Die Abbildung 10.3 zeigt fünf aufeinander folgende SPINOE-Experimente mit hyperpolarisiertem Xenon, gelöst in Toluol (Darstellung des charakteristischen Bereichs für aromatische Protonen). Am Anfang (Zeitpunkt 0 s) ist ein Protonenspektrum, welches ohne hyperpolarisiertes Xenon aber mit der SPINOE-Pulssequenz aufgenommen wurde, zu sehen. Die erste Messung nach dem Einführen der Probe in den Magneten erfolgte nach 30 s. Die weiteren angegebenen Zeitintervalle zwischen den einzelnen Messungen ergeben sich aus der Zeit zwischen dem Ende einer Aufnahme und dem nächsten *zg-Kommando* (Startzeichen für das Spektrometer, mit der Aufnahme zu beginnen) und der Zeit für die *Dummyscans*.

In Abbildung 10.4 ist das Protonensignal von Toluol im thermodynamischen Gleichgewicht und ein SPINOE-Signal zum Vergleich abgebildet. Die Signalintensitäten der Protonen nach dem SPINOE liegen zwischen 3 % (Methylgruppe) und 1 % (Ringprotonen) des Gleichgewichtswerts. Zur Herstellung des hyperpolarisierten Xenons wurden hier und in allen nachfolgenden Experimenten folgende Einstellungen benutzt: $p_g = 0,65 \text{ MPa}$, $p_{Xe} = 0,004 \text{ MPa}$, $p_{N_2} = 0,005 \text{ MPa}$, $T = 418 \text{ K}$. Wie man sieht, gelingt der Übertrag der Kernspinpolarisation von Xenon-129 auf alle Protonen

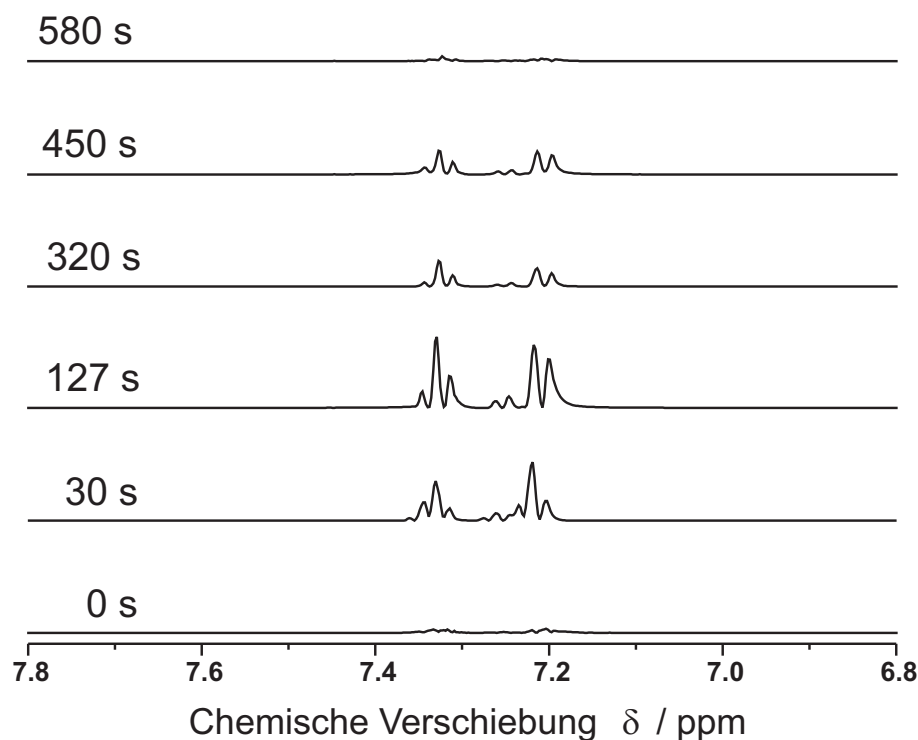


Abbildung 10.3: Zeitabhängige Messungen des H -1-Differenz-SPINOE-Signals von Toluol, entstanden durch Polarisationstransfer von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf die Protonen des Lösungsmittels. Im Abstand von mehreren Sekunden wurden Protonenspektren mittels der Differenz-SPINOE-Pulssequenz aufgenommen. Hier: Signal der aromatischen Ringprotonen.

des Toluols. Die Werte des SPINOE liegen ebenso im erwarteten Bereich von einigen Prozenten der Gleichgewichtswerte der verschiedenen Protonen.

Die Zeitabhängigkeit des SPINOE ist aus der Messkurve in Abbildung 10.5 ersichtlich (vgl. Kapitel 3). Nach Gleichung 3.3 ergibt sich eine Summe aus einer exponentiell ansteigenden und einer exponentiell abfallenden Kurve. Dabei ist die Anstiegsrate $\rho_H = 0,125\text{ s}^{-1}$, [68]. Die Relaxationsrate ρ_{Xe} sowie die Austauschrate σ_{HXe} wurden durch Anpassung der Daten mittels des Computerprogramms *Origin 6.1* zu $\rho_{Xe} = (5,60 \pm 0,74) \cdot 10^{-3}\text{ s}^{-1}$ und $\sigma_{HXe} = (0,080 \pm 0,006) \cdot 10^{-3}\text{ s}^{-1}$ bestimmt. Allerdings muss man anmerken, dass die Zahl der Messpunkte relativ gering ist. Deshalb sind die damit berechneten Relaxationsraten mit einem Fehler von 15 % bzw. 8 % behaftet.

Auf grund der vielversprechenden Messergebnisse für Toluol wurde das Verfahren auch auf eine Aminosäure angewendet.

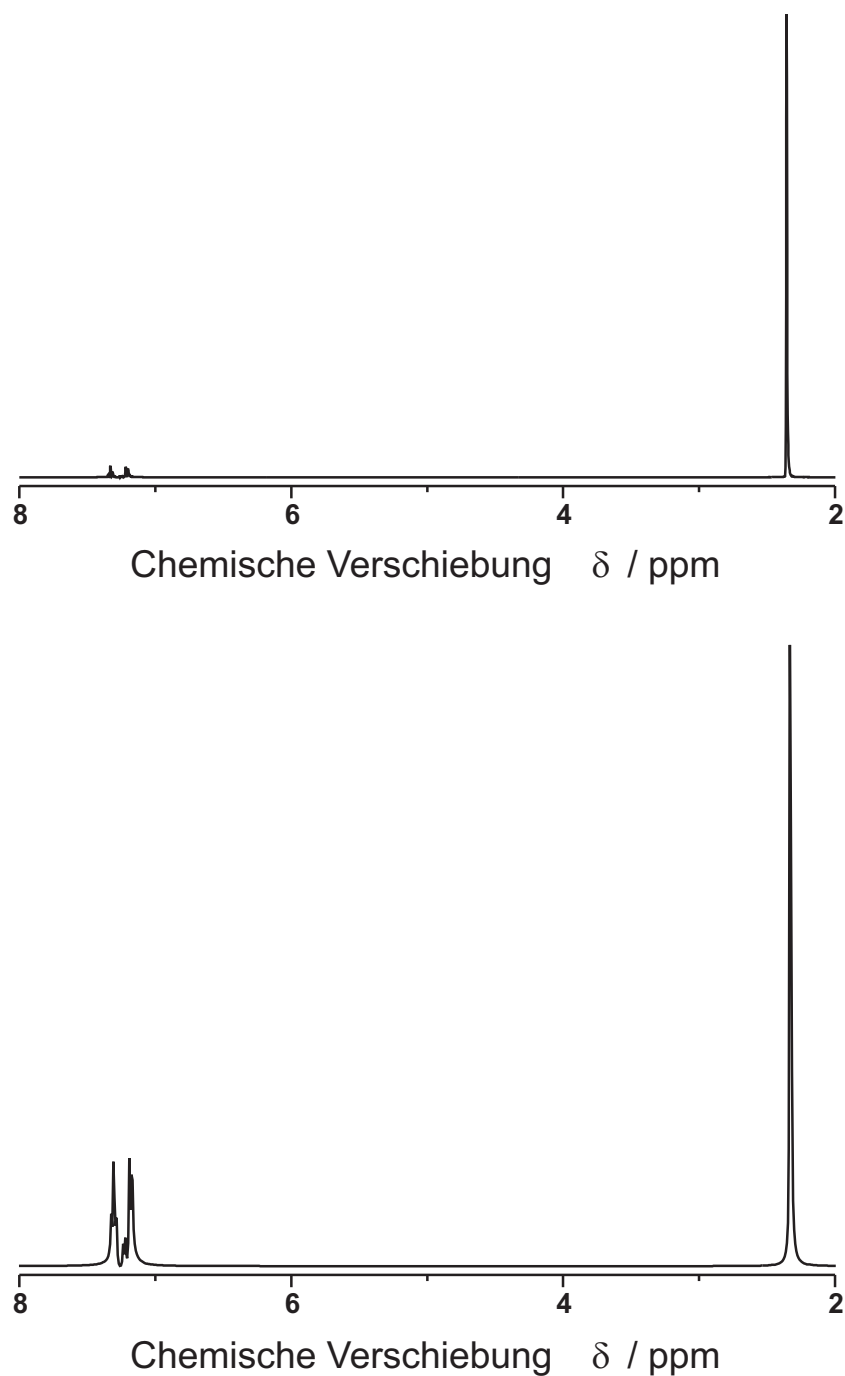


Abbildung 10.4: Unten: ^1H NMR-Spektrum von Toluol im thermodynamischen Gleichgewicht bei 296 K. Oben: ^1H -Differenz-SPINOE-Signal von Toluol bei 296 K (100-fach vergrößert). Zu sehen sind jeweils die Signale der Ringprotonen zwischen 7,40 ppm und 7,20 ppm und die Signale der Methylprotonen bei 2,37 ppm.

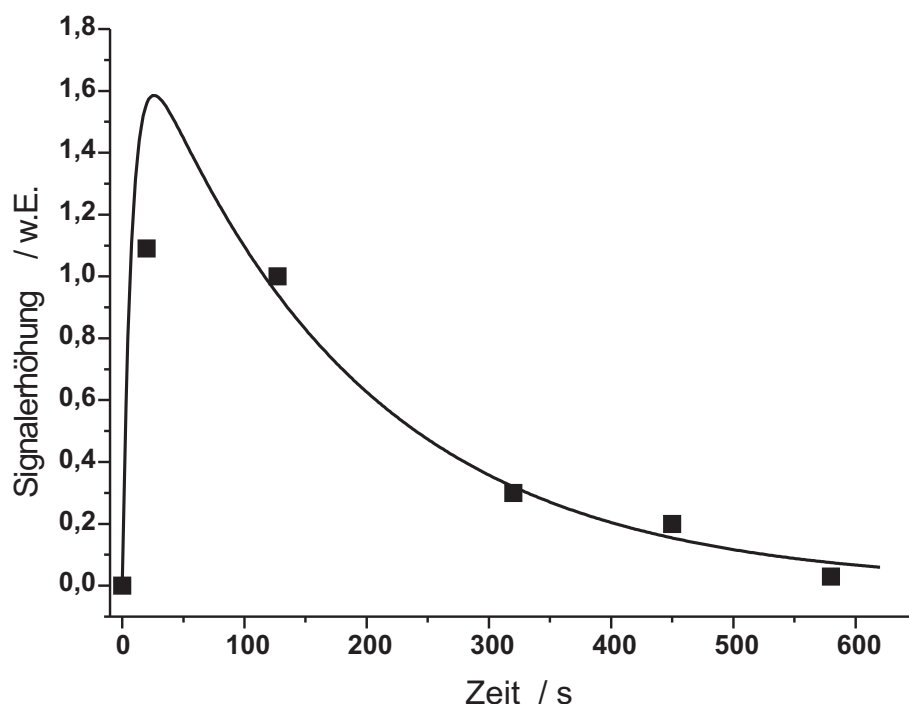


Abbildung 10.5: *Signalerhöhung der Methylprotonen von Toluol durch SPINOE in Abhängigkeit von der Zeit. Unter der Voraussetzung von $T_1^H = 8\text{ s}$ [68] wurden folgende Werte für die Relaxationszeit von Xenon-129 und für die Austauschrate zwischen den Protonen und Xenon-129 berechnet: $T_1^{Xe} = (179 \pm 30)\text{ s}$, $\sigma_{H Xe} = (0,080 \pm 0,006) \cdot 10^{-3}\text{ s}^{-1}$.*

10.2.2 SPINOE-Experimente mit der Aminosäure L-Tyrosin

Der Übertrag der Spinpolarisation von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf Protonen der Aminosäure L-Tyrosin wurde ebenfalls untersucht. In Abbildung 10.6 ist die Strukturformel der Aminosäure L-Tyrosin dargestellt. In Abbildung 10.7 sind das H-1-Differenz-SPINOE-Signal und zum Vergleich ein Protonensignal im thermodynamischen Gleichgewicht zu sehen. Obwohl die Molekülkonzentration wesentlich geringer ist als beim Toluol (ersichtlich aus dem Vergleich der beiden Protonenspektren von Toluol und Tyrosin im thermodynamischen Gleichgewicht) sind die H-1-Differenz-SPINOE-Signale der Ringprotonen bei 7,0 ppm bzw. 6,7 ppm deutlich zu erkennen.

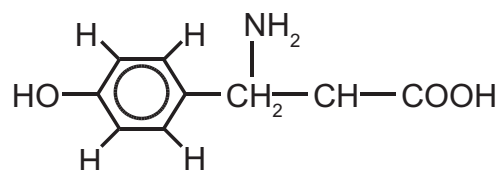


Abbildung 10.6: *Strukturformel der Aminosäure L-Tyrosin*

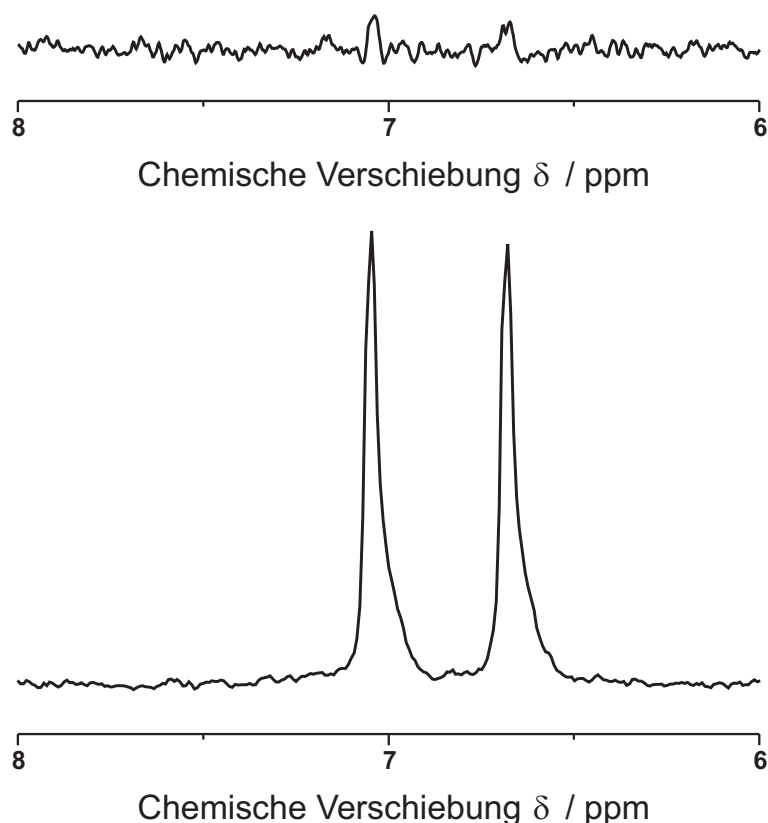


Abbildung 10.7: Unten: Protonenspektrum von 10 mM Tyrosin bei 298 K. Oben: Protonenspektrum welches durch den SPINOE-Übertrag von hyperpolarisiertem Xenon-129 auf Tyrosin entstanden ist. Zu sehen sind die ^1H -Differenz-SPINOE-Signale der Ringprotonen bei 7,0 ppm und 6,7 ppm.

Ihre Intensitäten liegen bei ca. 2 % des Gleichgewichtswerts. Geht man bei den restlichen Protonen auch von einer SPINOE-Signalintensität von ca. 2 % des Gleichgewichtswertes aus, so kann man leicht abschätzen, dass die zu erwartenden SPINOE-Signale im Rauschen liegen.

Für das Tyrosin konnte keine zeitabhängige Messreihe wie bei Toluol aufgenommen werden, da das Protonensignal bereits nach einem Scan wieder verschwunden war. Ein Grund für die schnellere Relaxation des SPINOE-Signals ist, dass Toluol einen um fast 100 Grad niedrigeren Schmelzpunkt hat als H_2O . Daher dauert es länger, die gefrorene wässrige Lösung mit dem hyperpolarisierten Xenon wieder aufzutauen, was bereits vor der Messung zu Polarisationsverlusten führt. Außerdem ist die Löslichkeit von Xenon in Toluol 34 mal größer als die Löslichkeit in H_2O , weshalb sich weniger Xenonatome in der Flüssigkeit befinden.

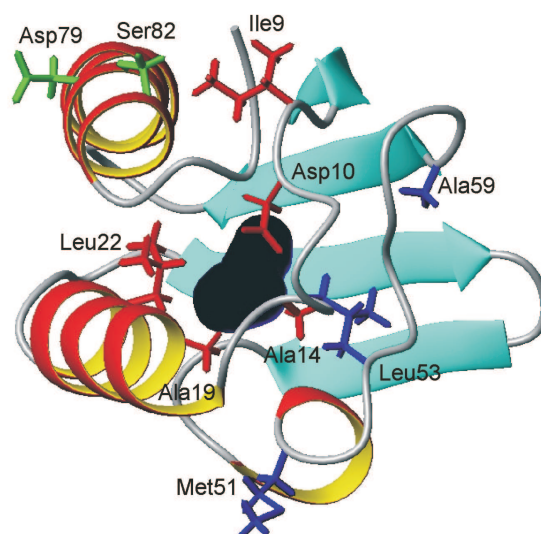


Abbildung 10.8: Die I14A Austauschmutante des *Histidine-containing Phosphocarrier Proteins* HPr mit Kavität. Aminosäuren in unmittelbarer Nähe der Kavität sind bezeichnet.

10.2.3 SPINOE-Experimente am Protein HPr(I14A)

Nach der erfolgreichen Anwendung des SPINOE auf kleinere Moleküle, wie zum Beispiel auf eine Aminosäure, wurde das Experiment an einem Protein durchgeführt. Es war dies die Austauschmutante I14A des *Histidine-containing Phosphocarrier Proteins* (HPr). Für dieses Protein liegt eine vollständige Zuordnung der NMR-Signale vor [69] und es ist bekannt, dass das Xenon bevorzugt in die künstlich erzeugte hydrophobe Kavität, die durch den Austausch von *Isoleucin 14* mit einem *Alaninrest* entsteht, bindet [37]. Das HPr(I14A) bietet sich somit als ein gutes Modellsystem zur Bewertung der Einsetzbarkeit des SPINOEs zur Aufklärung komplexer Molekülstrukturen an. In Abbildung 10.8 ist eine Struktur des HPr(I14A) mit denjenigen Aminosäuren, die sich in unmittelbarer Nähe der Kavität befinden, zu sehen. Es wäre zu erwarten, dass eine Protonensignalerhöhung durch den SPINOE bei genau diesen Aminosäuren zu beobachten ist.

Das erhaltene Messergebnis ist in Abbildung 10.9 gezeigt. Das H-1-Differenz-SPINOE-Signal liegt weitgehend im Rauschen, ein Polarisationsübertrag auf die H₂O-Protonen und den Puffer war dagegen nachweisbar. Eine nähere Betrachtung zeigt, allerdings, dass unter den gegebenen experimentellen Bedingungen keine größeren Signal erwartet werden können. Der Vergleich der Signal-Rausch-Verhältnisse von HPr mit denen des Toluols oder des Tyrosins zeigt, dass bei einem geschätzten SPINOE von ca.

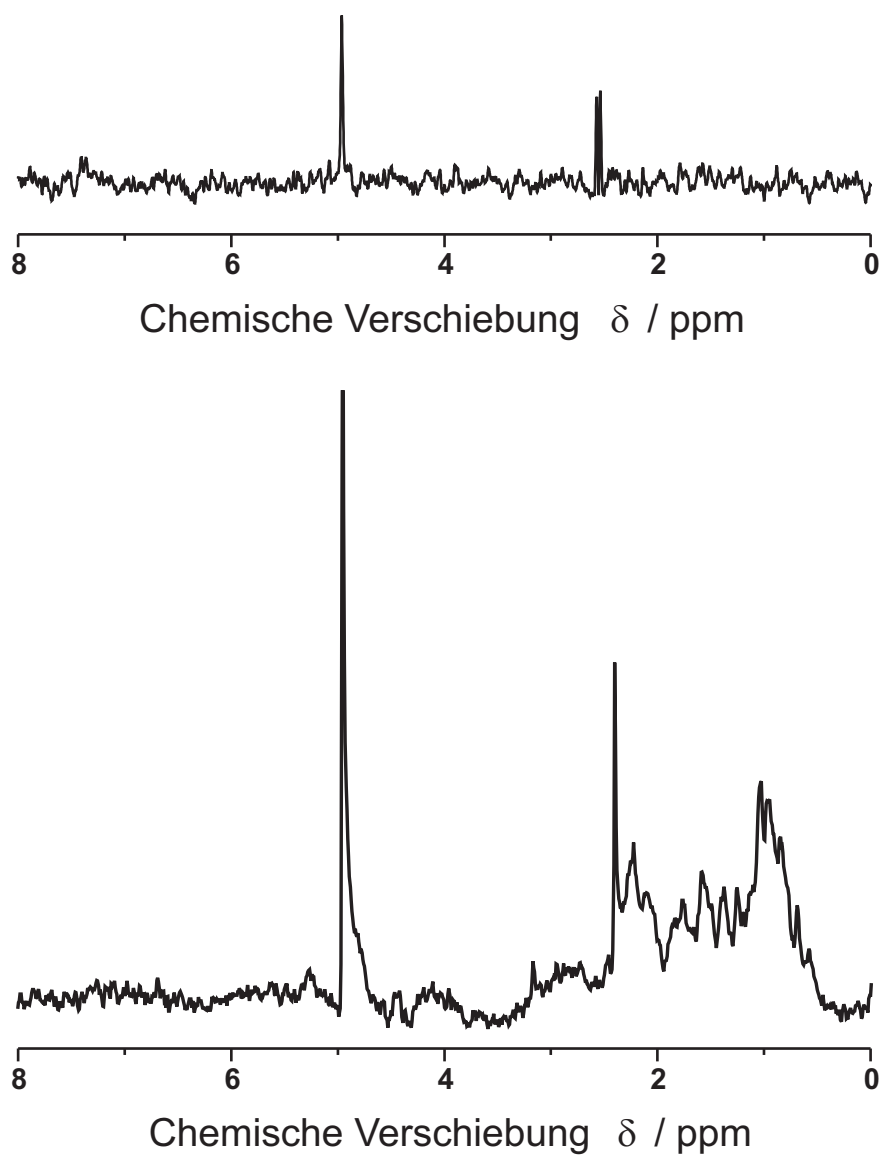


Abbildung 10.9: Oben: Protonenspektrum von HPr(I14A) aufgenommen mit der SPINOE-Pulssequenz und hyperpolarisiertem Xenon-129 bei 297 K. Unten: Protonenspektrum von HPr(I14A) mit 2 Scans bei 297 K. Neben dem H_2O -Peak bei ca. 4,8 ppm ist noch jeweils ein weiterer großer Peak bei 2,4 ppm zu sehen, der vermutlich vom Puffer stammt.

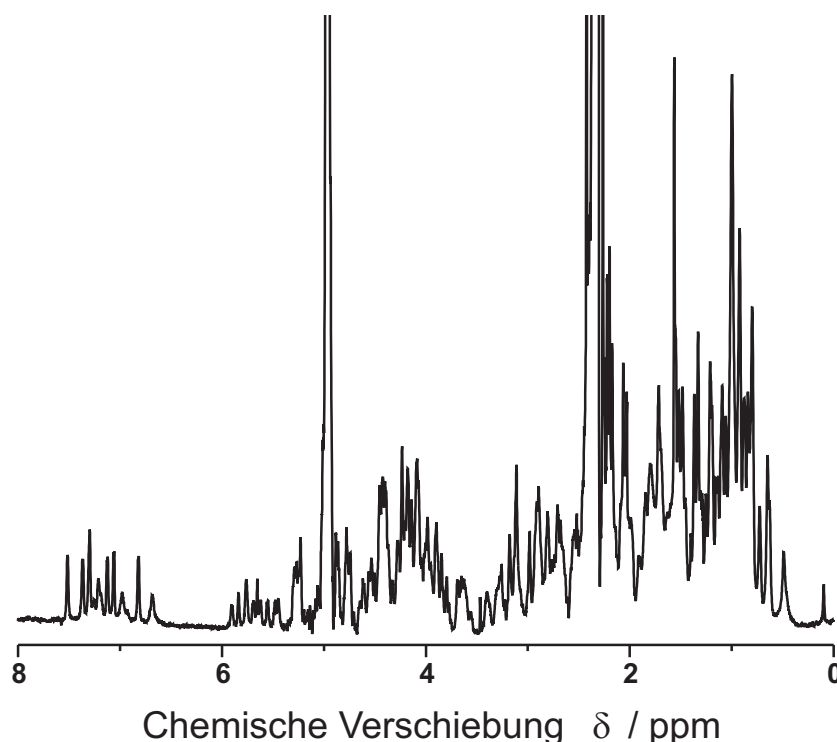


Abbildung 10.10: *Protonenspektrum von 1 mM HPr (I14A) bei 295 K, gemessen am 800 MHz Spektrometer mit 2 Scans.*

4 % des Gleichgewichtswerts, die H-1-Differenz-SPINOE-Signale im Rauschen liegen müssen. Um das Signal-Rausch-Verhältnis zu verbessern, könnte man die Messungen in der Zukunft an einem Hochfeld-Spektrometer durchführen. Wie das Spektrum in Abbildung 10.10 zeigt, erhöht sich durch Messung am 800 MHz Spektrometer mit Kryoprobekopf das Signal-Rausch-Verhältnis des Protonenspektrums des HPrs um bis zu einem Faktor 100. Man erhält außerdem eine wesentlich besserer Auflösung der einzelnen Signale. Allerdings gibt es noch keinen Probekopf für das 800 MHz Spektrometer, welcher die Einstrahlung von Hochfrequenzpulsen auf Xenon-129 erlaubt. Dass das Ergebnis im Vergleich zur Messung mit Tyrosin schlechter ausfällt, liegt auch an der um einen Faktor 10 geringeren Proteinkonzentration. Angemerkt sei außerdem, dass die von anderen Arbeitsgruppen gemessenen SPINOE's auf Proteine und größere Moleküle alle mit isotonenangereichertem Xenon-129 durchgeführt wurden [11]. Allein dadurch würde man eine Signalerhöhung auf das Dreifache erhalten. Wenn man die Probenkonzentration erhöht, die Anlage auf Durchfluss-Betrieb umstellt, die neue Membranapparatur und isotonenangereichertes Xenon-129 verwendet, wird man mit den hier beschriebenen Vorarbeiten hyperpolarisiertes Xenon-129 und den Spinpolarisationsübertrag zur Detektion von Kavitäten und zur Strukturbestimmung von komplexen Molekülen nutzen können.

Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Anlage zur Erzeugung von hyperpolarisiertem Xenon-129 im *single-batch*-Betrieb aufgebaut. Es konnten mit Hilfe dieser Apparatur Experimente mit hyperpolarisiertem Xenon durchgeführt werden. Außerdem wurde die chemische Verschiebung von thermisch polarisiertem Xenon in Abhängigkeit von der Xenondichte gemessen. Dabei wurde die von Jameson et al. [47] bis 250 amagat gemessene Kurve auf 400 amagat ausgedehnt. Desweiteren konnte gezeigt werden, dass Suszeptibilitäts-Effekte, bei den in dieser Arbeit ausgeführten Experimenten, zu vernachlässigen sind.

Nach dem Aufbau der Anlage zur Erzeugung von hyperpolarisiertem Xenon-129 konnten auf grund der experimentellen Daten, der numerischen Berechnungen und der Experimente folgende Parameter für das optimale optische Pumpen des Alkalimetalls Rubidium und für den Polarisationsübertrag auf das Isotop Xenon-129 des Edelgases Xenon ermittelt werden: die optimale Vorheizdauer der Pumpzelle beträgt ca. 2 Stunden bei 418 K und einer anschließenden Pumpdauer von ca. 3,5 Minuten. Das optimale Gasgemisch besteht aus 0,004 MPa Xenon, 0,05 MPa Stickstoff und 0,6 MPa Helium. Damit erreicht die Anlage eine durchschnittliche Kernspinpolarisation für Xenon-129 von 25 % und unter optimalen Bedingungen einen Maximalwert von ca. 40 %. Wie die Berechnungen zeigten, ist die hier gewählte Pumpzellengeometrie bzw. -dimensionierung für die verwendete Laserleistung von 23 Watt am geeignetsten. Experimentell konnte bestätigt werden, dass eine Silikonbeschichtung der Pumpzelle die Kernspinpolarisation des Xenons wesentlich verbessert. Ebenso wichtig ist es, alle paramagnetischen Bauteile aus der Anlage zu entfernen und möglichst viele Bauteile, wie Absperrventile oder Rohrleitungen aus PVC zu verwenden.

Der Transport des hyperpolarisierten Xenons hat in einem Magnetfeld in flüssigem Stickstoff zu erfolgen, um Polarisationsverluste zu vermeiden. Das anschließende Auftauen des gefrorenen Xenons am Spektrometer muss rasch, am besten durch Eintauchen des Probenrohrs in heißes Wasser und im Streufeld des Magneten erfolgen.

Nach dem Bau und der Optimierung der Anlage wurden Experimente mit hyper-

polarisiertem Xenon durchgeführt. Als erstes wurde versucht, das hyperpolarisierte Xenon in verschiedenen Flüssigkeiten zu lösen. Es war zwar möglich, das Gas in die Flüssigkeiten zu bringen, allerdings nur in geringen und nicht den Löslichkeiten entsprechenden Mengen. Außerdem traten dabei wesentliche Verluste der Kernspinpolarisation auf. In Zusammenarbeit mit dem Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz konnte eine neue, vielversprechende Methode entwickelt werden, hyperpolarisiertes Xenon mit relativ geringen Kernspinpolarisationsverlusten unter kontinuierlichem Fluss in die Lösung einzubringen. Diese Methode basiert auf einer in der Medizin verwendeten Membran, durch welche das Gas in die Flüssigkeit diffundieren kann. Diese Membran kann in ein herkömmliches NMR-Probenröhrchen eingebaut und über Plastikschläuche direkt mit der Anlage zur Herstellung des hyperpolarisierten Xenons verbunden werden. Die Anlage muss allerdings im Durchfluss-Betrieb betrieben werden, was die Kernspinpolarisation erfahrungsgemäß verringert. Dieser Nachteil wird aber durch die vorteilhaften Eigenschaften der Membranapparatur kompensiert. Mittels dieser Technik wurde hyperpolarisiertes Xenon in H_2O und DMSO gelöst. Die Effizienz und Zuverlässigkeit dieser neuen Apparatur wurde durch Vergleichsmessungen zwischen hyperpolarisiertem Xenon in einer wässrigen Lösung mit den Phospholipiden DHPC/DMPC, die darin Mizellen bilden, und thermisch polarisiertem Xenon bewiesen. Es ist gelungen, ein System zu entwickeln, mit dessen Hilfe hyperpolarisiertes Xenon ohne Blasenbildung und mit nur geringen Polarisationsverlusten in Lösung gebracht werden kann. Diese Methode soll in Zukunft auch für SPINOE-Experimente verwendet werden.

Der Polarisationstransfer von hyperpolarisiertem Xenon auf Protonen wurde ebenfalls im Rahmen dieser Arbeit untersucht. Möglich wurde diese Detektion durch Verwendung eines speziellen Differenz-SPINOE-Experiments. Dazu wurde eine aus der Literatur bekannte Pulssequenz für die in unseren Experimenten bestehenden Bedingungen geeignet modifiziert. Es gelang, den Übertrag von Kernspinpolarisation von Xenon-129 auf die Protonen des Lösungsmittels Toluol nachzuweisen, ebenso wie die Aufnahme der zeitlichen Entwicklung dieses Effekts bei Toluol. Nach diesen Vorarbeiten konnte zum ersten Mal ein SPINOE auf Protonen der Aminosäure Tyrosin beobachtet werden. Allerdings konnte keine Zeitabhängigkeit aufgenommen werden, da die Kernspinpolarisation zu schnell relaxierte. Grund hierfür dürfte vor allem der niedrigere Schmelzpunkt von Toluol sein, weil dadurch der Auftauvorgang am Spektrometer verkürzt wird. Weiterhin besteht das Problem, genügend hyperpolarisiertes Xenon in Lösung, vor allem in H_2O , zu bringen.

Um zu zeigen, dass man diese Technik auch zu Strukturuntersuchungen von Molekülen verwenden kann, wurde ein Experiment mit hyperpolarisiertem Xenon in einer

wässrigen Lösung mit der Austauschmutante I14A der HPr-Proteins durchgeführt. Da bekannt ist, dass Xenon bevorzugt in die durch die Mutation entstandene Kavität bindet, war zu erwarten, dass es eine lokale Signalerhöhung der Protonen gibt, deren Aminosäuren um die Bindungsstellen lokalisiert sind. Dadurch könnte man mit der SPINOE-Technik Kavitäten oder spezifische Bindungsstellen des Xenons in Molekülen detektieren und lokalisieren. Es waren allerdings nur kleine Signalerhöhungen zu erkennen. Grund dafür ist wahrscheinlich die geringe Probenkonzentration sowie die Tatsache, dass kein isopenangereichertes Xenon-129 sondern Xenon in natürlicher Häufigkeit verwendet wurde. Vergleicht man allerdings diese Messungen mit den bis jetzt in der Literatur erwähnten einzigen Messungen an einem Protein, so ist festzustellen, dass die in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse sehr vielversprechend sind. Die in der Literatur beschriebenen, mit isopenangereichertem Xenon-129 erzielten Spektren weisen kein wesentlich besseres Signal-Rausch-Verhältnis auf. Insgesamt lässt sich festhalten, dass die hier beschriebene Anlage durch die folgenden Verbesserungen noch zu optimieren wäre: Umstellung der Anlage auf Durchfluss-Betrieb, eine damit verbundene Anpassung der Pumpzelligeometrie, Einsatz eines weiteren Lasers zur Erhöhung der Kernspinpolarisation, Verwendung der Membranapparatur zur besseren Lösung des hyperpolarisierten Xenons in Flüssigkeiten sowie Verwendung von isopenangereichertem Xenon-129. Nach diesen Verbesserungen wird die im Rahmen dieser Arbeit aufgebaute Anlage zur Erzeugung von hyperpolarisierten Xenon-129 noch bessere Ergebnisse auf dem Gebiet der biologischen NMR, vor allem auch bei der Strukturbestimmung von Proteinen, liefern.

Anhang

```
;spinoe.db
;avance-version (02/07/15)
;SPINOE
;1D Direct observation of magnetization transfer between
;hyperpolarized xenon and protons
;using f2 - channel
;
;H.Desvaux, T.Gautier, G. Le Goff, M Petro & P. Berthault,
;Eur. Phys. J. D 12, 289-296 (2000)
;P. Berthault, C. Landon, F. Vovelle, H. Desvaux,
;C. R. Acad. Sci. Paris, t.2, Serie IV 327-332 (2001)

#include <Avance.incl>
#include <Grad.incl>
#include <Delay.incl>

"p2=p1*2"
"p22=p21*2"
"d0=3u"
"d11=30m"

1 ze
  d11
2 d1
  UNBLKGRAD
3 p1 ph1
```

```

p16:gp1
lo to 2 times 32
d26
(center (15u gron0) (p14:sp0 ph6):f2)
100u groff
d13
(center (15u gron0) (p14:sp0 ph6):f2 )
100u groff
p1 ph1
d13
p1 ph2
BLKGRAD
go=2 ph31
4 d1
UNBLKGRAD
5 (p1 ph1)
p16:gp1
lo to 4 times 32
BLKGRAD
d26
d13
p1 ph1
d13
p1 ph2
go=4 ph31
d1 mc #0 to 2
exit

```

```

ph1=0 1
ph2=1
ph3=0 2
ph4=0 0 2 2
ph5=1 1 3 3
ph6=0
ph7=0 0 2 2
ph31=0 2 2 0

```



```
;p11 : f1 channel - power level for pulse (default)
;p13 : f2 channel - power level for pulse (default)
;p116: f2 channel - power level for CPD/BB decoupling
;sp3: f2 channel - shaped pulse 180 degree (adiabatic)
;p1 : f1 channel - 90 degree high power pulse
;p2 : f1 channel - 180 degree high power pulse
;p14: f2 channel - 180 degree shaped pulse for inversion (adiabatic)
;p16: homospoil/gradient pulse [1 msec]
;p21: f2 channel - 90 degree high power pulse
;p22: f2 channel - 180 degree high power pulse
;d1 : relaxation delay; 1-5 * T1 f:1
;d11: delay for disk I/O [30 msec]
;d13: short delay [4 usec]
;d16: delay for homospoil/gradient recovery
;NS: 1 * n

;use gradient files:
;gpnam1: SINE.100
;gpnam2: SINE.100
;gpnam3: SINE.100

;$Id: hsqcetf2gpsi,v 1.2 2002/07/16 12:41:06 ber Exp $
```

Literaturverzeichnis

- [1] U. Ruth, T. Hof, J. Schmidt, D. Fick, H. J. Jänsch,
Appl. Phys. B, **68** (1999) 93.
- [2] F. Bloch, W.W. Hansen, M. Packard,
Phys. Rev, **69** (1946) 127.
- [3] F. Bloch,
Phys. Rev., **70** (1946) 460.
- [4] F. Bloch, W.W. Hansen, M. Pachard,
Phys. Rev., **70** (1946) 474.
- [5] E. M. Purcell, H. C. Torrey, R. V. Pound,
Phys. Rev., **69** (1946) 37.
- [6] I. I. Rabi, S. Millman, P. Kusch,
Phys. Rev., **55** (1939) 526.
- [7] D. S. Raiford, C. L. Fisk, E. D. Becker,
Anal. Chem., **51** (1979) 2050.
- [8] M. Albert, G. Cates, B. Driehuys, B. Happer, W. Saam, C. S. Springer,
A. Wishnia,
Nature, **199** (1994) 199.
- [9] G. Navon, Y. Q. Song, T. Rødm, S. Appelt, R. E. Taylor, A. Pines,
Science, **271** (1996) 1848.
- [10] D. Raftery, H. Long, T. Meersmann, P. J. Grandinetti, L. Reven, A. Pines,
Phys. Rev. Lett., **66** (1991) 584.
- [11] C. Landon, P. Berthault, F. Vovelle, H. Desvaux,
Protein Sci., **10** (2001) 762.

- [12] T. J. Lowery, M. Doucleff, E. J. Ruiz, S. M. Rubin, A. Pines, D. E. Wemmer,
Protein Sci., **14** (2005) 848.
- [13] A. Kastler,
J. Phys. Radium, **11** (1950) 255.
- [14] W. Happer, E. Miron, S. Schaefer, D. Schreiber, W. A. van Wijngaarden,
X. Zeng,
Phys. Rev. A, **29** (1984) 3092.
- [15] T. G. Walker, W. Happer,
Rev. Mod. Phys., **69** (1997) 629.
- [16] W. Kilian,
Dissertation (2001).
- [17] T. E. Chupp, M. E. Wagshul, K. P. Coulter, A. B. McDonald, W. Happer,
Phys. Rev. C, **36** (1987) 2244.
- [18] E. S. Hryciyshyn, L. Krause,
Can. J. Phys., **48** (1970) 2761.
- [19] M. E. Wagshul, T. E. Chupp,
Phys. Rev. A, **49** (1994) 3854.
- [20] M. V. Romalis, E. Miron, G. D. Cates,
Phys. Rev. A, **56** (1997) 4569.
- [21] B. Driehuys, G. D. Cates, K. Sauer, D. K. Walter, W. Happer,
Appl. Phys. Lett., **69** (1996) 1668.
- [22] A. Ben-Amar Baranga, S. Appelt, C. J. Erickson, A. R. Young, W. Happer,
Phys. Rev. A, **58** (1998) 2282.
- [23] S. Kadlecěk, L. W. Anderson, T. G. Walker,
Phys. Rev. Lett., **80** (1998) 5512.
- [24] M. A. Bouchiat, J. Brossel, L. C. Pottier,
J. Chem. Phys., **56** (1972) 3703.
- [25] S. Appelt, A. Ben-Amar Baranga, C. J. Erickson, M. V. Romalis,
A. R. Young, W. Happer,
Phys. Rev. A, **58** (1998) 1412.

- [26] G.D. Cates, R.J. Fitzgerald, A.S. Barton, P. Bogorad, M. Gatzke, N.R. Newbury, B. Saam, Phys. Rev. A, **45** (1992) 4631.
- [27] A. Fink, D. Baumer, E. Brunner, Phys. Rev. A, **72** (2005) 53411.
- [28] G.D. Cates, S. Schäfer, W. Happer, Phys. Rev. A, **37** (1988) 2877.
- [29] E. Brunner, M. Haake, A. Pines, J.A. Reimer, R. Seydoux, Chem. Phys. Lett., **290** (1998) 112.
- [30] T. Rødm, S. Appelt, R. Seydoux, E.L. Hahn, A. Pines, Phys. Rev. B, **55** (1997) 11604.
- [31] Y. Song, B.M. Goodson, R.E. Taylor, D.D. Laws, G. Navon, A. Pines, Angw. Chem. Int. Ed. Engl., **36** (1997) 2368.
- [32] M. Luhmer, B.M. Goodson, Y. Song, D.D. Laws, L. Kaiser, M.C. Cyrier, A. Pines, J. Am. Chem. Soc., **121** (1999) 3502.
- [33] K.L. Sauer, R.J. Fitzgerald, W. Happer, Chem. Phys. Lett., **277** (1997) 153.
- [34] E. Brunner, R. Seydoux, M. Haake, A. Pines, J.A. Reimer, J. Magn. Reson., **130** (1998) 145.
- [35] M. Haake, A. Pines, J.A. Reimer, R. Seydoux, J. Am. Chem. Soc., **119** (1997) 11711.
- [36] P. Berthault, C. Landon, F. Vovelle, H. Desvaux, C. R. Acad. Sci. Paris, **6** (2001) 327.
- [37] C. Gröger, A. Möglich, M. Pons, B. Koch, W. Hengstenberg, H.R. Kalbitzer, E. Brunner, J. Am. Chem. Soc., **125** (2003) 8726.
- [38] Y. Song, Con. Mag. Res., **12** (2000) 6.
- [39] B.M. Goodson, J. Magn. Reson, **155** (2002) 157.

- [40] E. Brunner,
Conc. Mag. Res., **11** (1999) 313.
- [41] H. T. Edzes,
J. Magn. Reson., **86** (1990) 293.
- [42] Römpp-Lexikon, Chemie (1999).
- [43] H. L. Clever,
Krypton, Xenon and Radon - Gas Solubilities, **2**, Pergamon Press (1979).
- [44] M. Haake, B. M. Goodson, D. D. Laws, E. Brunner, M. C. Cyrier,
R. H. Havlin, A. Pines,
Chem. Phys. Lett., **296** (1998) 686.
- [45] J. C. Leawoods, B. T. Saam, M. S. Conradi,
Chem. Phys. Lett., **327** (2000) 359.
- [46] National Institute of Standard and Technology, USA.
- [47] C. J. Jameson, A. K. Jameson, S. M. Cohen,
J. Chem. Phys., **59** (1973) 4540.
- [48] C. J. Jameson, A. K. Jameson, H. S. Gutowsky,
J. Chem. Phys., **53** (1970) 2310.
- [49] D. Baumer, A. Fink, E. Brunner,
Z. Phys. Chem., **217** (2003) 289.
- [50] T. Pietraß, H. C. Gaede,
Adv. Mater, **7** (1995) 826.
- [51] K. W. Miller, N. V. Roe, U. Schoot, D. P. Stengle, T. R. Stengle, K. L. Wil-
liamson,
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **78** (1981) 4946.
- [52] M. Meier, A. Fink, E. Brunner,
J. Phys. Chem. B, **109** (2005) 3494.
- [53] Fa. Coherent,
www.coherent.com/Lasers
- [54] S. R. Breeze, S. Lang, I. Moudrakovski, C. I. Ratcliffe, J. A. Ripmeester,
G. Santry, B. Simard, I. Zuger,
J. Appl. Phys., **87** (2000) 8013.

- [55] M. Gatzke, G.D. Cates, B. Driehuys, D. Fox, W. Happer, B. Saam,
Phys. Rev. Lett., **70** (1993) 690.
- [56] M. Ottiger, A. Bax,
J. Biom., **12** (1998) 361.
- [57] C.R. Sanders II, J.P. Schwonek,
Biochemistry, **31** (1992) 8898.
- [58] C.J. Smithells,
Metals Reference Book, **2** (1962) 655.
- [59] A. Simon,
Homoatomic Rings, Chains and Macromolecules of Main-Group Elements
(1977) 117.
- [60] J. Fukutomi, E. Suzuki, T. Shimizo, A. Kimura, H. Fujiwara,
J. Magn. Reson., **160** (2003) 26.
- [61] N.B. Vargaftik,
Tables on the Thermophysical Properties of Liquids and Gases (1975).
- [62] P. Atkins, J. de Paula,
Atkins' Physical Chemistry (2002) 143.
- [63] P.P. Zänker, P. Blümmler, H.D. Lemke, H.W. Spiess,
Deutsche Patentanwendung: Verfahren zum Lösen von Gasen mit kurzle-
bigen Eigenschaften in einer Flüssigkeit (Xenonizer) (2005).
- [64] D. Baumer, P. Blümmler, E. Brunner, P.P. Zänker, H.W. Spiess,
J. Am. Chem. Soc., eingereicht (2005).
- [65] E. Brunner,
Conc. Mag. Res., **13** (2001) 238.
- [66] S. Han, S. Garcia, T.J. Lowery, E.J. Ruiz, J.A. Seeley, L. Chavez,
D.S. King, D.E. Wemmer, A. Pines,
Anal. Chem., **77** (2005) 4008.
- [67] P. Berthault, H. Desvaux, G. Le Goff, M. Pétro,
Chem. Phys. Lett., **314** (1999) 52.
- [68] S. Appelt, F.W. Häsing, S. Bär-Lang, N.J. Shah, B. Blümich,
Chem. Phys. Lett., **348** (2001) 263.

- [69] A. Möglich, B. Koch, W. Gronwald, W. Hengstenberg, E. Brunner, H.R. Kalbitzer, Eur. J. Biochem., **271** (2004) 4815.

Danksagung

Ich danke

- an erster Stelle meinem Chef Herrn Professor Dr. E. Brunner, der mir die Möglichkeit gegeben hat, in seiner Arbeitsgruppe an diesem sehr interessanten Thema zu forschen. Danke für die viele Zeit, die vielen hilfreichen Diskussionen und dafür, dass Sie immer ein offenes Ohr für die Probleme, Anregungen und Wünsche ihrer Mitarbeiter haben.
- Herrn Professor Dr. Dr. H.-R. Kalbitzer für die freundliche Aufnahme an seinem Lehrstuhl und für die HPr-Proben.
- Herrn PD Dr. W. Bäumler vom Lehrstuhl für Dermatologie des Klinikums der Universität Regensburg für die freundliche Übernahme des Zweitgutachtens.
- Herrn Professor Dr. H.-W. Spiess vom Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz für die gute Kooperation und die Möglichkeit zur Durchführung der Löslichkeitsmessungen an seinem Institut. Paul Zänker und Dr. Peter Blümner, ebenfalls vom MPI Mainz, für die hervorragende Zusammenarbeit.
- Alexander Fink für die Berechnungen zur Optimierung der Pumpzelle, die fachlichen Gespräche, aber auch für den Spaß, den er immer wieder in den teils tristen Unialltag brachte.
- Christian Gröger und Rainer Hartl für das gute Klima im Zimmer und der Möglichkeit jederzeit über fachliche, aber auch fachfremde Themen zu sprechen. Katharina Lutz für die biochemischen Tipps zur Erleichterung des Laboralltags (ich weiß jetzt wie man einen pH-Wert einstellt), Sabine Schmidl für die Herstellung der Proteinproben und die Unterstützung bei den SPINOE-Experimenten und besonders Ingrid Cuno für die hilfsbereite Unterstützung in allen Lebenslagen.
- Christoph Kohstall und der mechanischen Werkstatt der biologischen Fakultät

für ihre wertvolle Hilfe beim Bau der Anlage.

- Meinen Eltern, die mir mein Studium ermöglicht haben und meinem Mann Wolfram, *mo chroi*, für seine liebevolle Unterstützung.
- Last but not least, Wieland d. Schmied für seine unermüdliche Hilfe beim Erstellen von Postern, Papern und der Doktorarbeit, seinen Anekdoten (wie war das jetzt gleich noch mal mit dem Schwert und dem Schaf, oder war es ein Wollknäul?), sowie seiner steten Bereitschaft zur Diskussion über geschichtliche Aspekte der Wissenschaft.

All den oben genannten Personen gilt mein aufrichtiger Dank; ohne ihre Hilfe wäre so manches überhaupt nicht möglich oder zumindest vieles schwerer gewesen.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt und keine anderen Hilfsmittel, außer den angegebenen verwendet habe.

Regensburg, Februar 2006

Daniela Baumer